

ANNÉE 1933

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

DONATIEN ODIETTE

Né le 15 Janvier 1906, à NANTES (Loire-Inférieure)

Contribution à l'Etude de la Substance Élastique dans les Cultures de Tissus

“ in vitro ”

Président : M. JEAN VERNE, Professeur

— AURILLAC —
IMPRIMERIE MODERNE
— 6, Rue Guy-de-Veyre —

1933

ANNÉE 1933

THÈSE

N°

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

DONATIEN ODIETTE

Né le 15 Janvier 1906, à NANTES (Loire-Inférieure)

Contribution à l'Etude de la Substance Élastique dans les Cultures de Tissus

“ in vitro ”

Président : M. JEAN VERNE, Professeur

— AURILLAC —
IMPRIMERIE MODERNE

— 6, Rue Gouv-de-Veyre —

1933

LE DOYEN : BALTHAZARD

I. — PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	ROUVIÈRE
Anatomie médico-chirurgicale et chirurgie expérimentale	N
Physiologie	BINET
Physique médicale	STROHL
Chimie médicale	DESGREZ
Bactériologie	DEBRÉ
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT
Pathologie et thérapeutique générales	BAUDOUIN
Pathologie médicale	CLERC
Pathologie chirurgicale	MARION
Anatomie pathologique	ROUSSY
Histologie	CHAMPY
Pharmacologie et matière médicale	TIFFENEAU
Thérapeutique	LOEPER
Hygiène et médecine préventive	TANON
Médecine légale	BALTHAZARD
Histoire de la médecine et de la chirurgie	LAIGNEL - LAVASTINE
Pathologie expérimentale et comparée	FIESSINGER
Hydrologie thérapeutique et climatologie	VILLARET Maurice
Clinique médicale	CARNOT
	BEZANÇON
	ACHARD
Hygiène et clinique de la première enfance	LABBÉ (Marcel)
Clinique des maladies des enfants	LEREBoullet
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	NOBÉCOURT
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques ..	CLAUDE (H.)
Clinique des maladies du système nerveux	GOUGEROT
Clinique des maladies infectieuses	GUILLAIN
	LEMIERRÉ
Clinique chirurgicale	LENORMANT
	CUNÉO
	GRÉGOIRE
Clinique ophtalmologique	GOSSET
Clinique urologique	TERRIEN
	LEGUEU
Clinique d'accouchements	COUVELAIRE
	BRINDEAU
Clinique gynécologique	JEANNIN
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	FAURE (J.-L.)
Clinique thérapeutique médicale	OMBRÉDANNE
Clinique oto-rhino-laryngologique	RATHERY
Clinique thérapeutique chirurgicale	LEMAITRE
Clinique propédeutique	DUVAL (Pierre)
Clinique de la Tuberculose	SERGEANT
Clinique chirurgicale orthopédique de l'adulte	BERNARD (Léon)
	MATHIEU
Professeurs sans chaire	HOVELACQUE
	MAUCLAIRE
	MULON
	VERNE

. II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.

ALAJOUANINE . Neurologie et Psychiâ-
trie.
AUBERTIN Pathologie médicale.
BÉNARD **Henri**. Pathologie médicale.
BROCC Pathologie chirurgicale.
BRULÉ Pathologie médicale.
BUSQUET Pharmacologie.
CADENAT Pathologie chirurgicale.
CATHALA Pathologie médicale.
CHABROL Pathologie médicale.
CHAILLEY-BERT. Physiologie.
CHEVALLIER .. Pathologie médicale.
DOGNON Physique.
DONZELOT Pathologie médicale.
ÉCALLE Obstétrique.
FEY Urologie.
GASTINEL Bactériologie.
GATELLIER ... Pathologie chirurgicale.
DE GAUDART D'ALLAINES. Pathologie
chirurgicale.
GIROUD Histologie.
HALPHEN Oto-rhino-laryngologie.
HARVIER Pathologie médicale.
HAZARD Pharmacologie.
HUGUENIN Anatomie pathologique.
HUTINEL Pathologie médicale.

MM.

JOANNON Hygiène.
LABBÉ (Henri). Chimie biologique.
LAROCHÉ (Guy) Pathologie médicale.
LEVEUF Pathologie chirurgicale.
LÉVY-VALENSI. Neuro-psychiâtrie.
LIAN Pathologie médicale.
MONDOR Pathologie chirurgicale.
MOREAU Pathologie médicale.
MOULONGUET . Pathologie chirurgicale.
MOURE Pathologie chirurgicale.
OBERLING Anatomie pathologique.
OLIVIER Anatomie.
PIÉDELIÈVRE .. Médecine légale.
PORTES Obstétrique.
QUÉNU Pathologie chirurgicale.
RICHET Physiologie.
SANNIÉ Chimie biologique.
SÉZARY Dermatologie et syphi-
liographie.
TROISIÈRE Pathologie expérimen-
tale et comparée.
VALLÉRY-RADOT
(Pasteur) .. Pathologie médicale.
VAUDESCAL ... Obstétrique.
VELTER Ophtalmologie.
VIGNES Obstétrique.

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

pour le service des examens

MM.

LEQUEUX Obstétrique.
LEROUX Anatomie pathologique.

MM.

NEVEU-LEMAIRE Parasitologie.
REITTERER Histologie.
ZIMMERN Physique.

IV. — AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

à titre permanent

MM.

ABRAMI Clinique médicale.
CHIRAY Clinique médicale.
DUVOIR Clinique médicale.
BASSET Clinique chirurgicale.
CHEVASSU Clinique chirurgicale.
HEITZ-BOYER .. Clinique chirurgicale.

MM.

MOCQUOT Clinique chirurgicale.
PROUST Clinique chirurgicale.
SCHWARTZ Clinique chirurgicale.
LE LORIER ... Clinique obstétricale.
LÉVY-SOLAL .. Clinique obstétricale.
METZGER Clinique obstétricale.
GUÉNIOT Clinique obstétricale.

V. — CHARGÉS DE COURS

MM. MAUCLAIRE, professeur
sans chaire

FREY
CHAILLEY-BERT, agrégé.
LEDOUX-LEBARD
WEIL-HALLÉ

Chargé du cours de chirurgie orthopédique
chez l'adulte pour les accidentés du travail,
les mutilés de guerre et les infirmes adultes.
Stomatologie.
Education physique.
Radiologie clinique.
Puériculture.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A LA MEMOIRE DE MES GRANDS-PARENTS
ET DE MON BEAU-FRERE

A MA FEMME

A MES PARENTS

Témoignage de mon profond amour filial.

A MA FAMILLE

A TOUS MES AMIS

A MON MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

M. LE PROFESSEUR JEAN VERNE

Professeur à la Faculté de Médecine de Paris

Docteur ès sciences

Chef du service de cyto-biologie à l'Institut du Cancer

Chevalier de la Légion d'honneur

qui m'a fait le très grand honneur d'accepter la présidence de cette thèse, après m'en avoir inspiré le sujet.

Qu'il me soit permis de l'assurer de ma très vive reconnaissance et de mon amitié sincère.

A MON MAÎTRE

M. LE PROFESSEUR GUSTAVE ROUSSY

Professeur à la Faculté de Médecine de Paris

Membre de l'Académie de Médecine

Directeur de l'Institut du Cancer

Officier de la Légion d'honneur

En hommage de gratitude, d'admiration,
et de respectueux dévouement.

A MES MAÎTRES DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

A MES MAÎTRES DES HÔPITAUX ET DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE
DE NANTES

Etude de la Substance Elastique dans les Cultures de Tissus

“ in vitro ”

INTRODUCTION

Chez l'être humain, et, chez tous les mammifères, il existe peu d'organes où il ne soit possible d'isoler la substance élastique.

Si, dans certains tissus, elle ne constitue pas la substance principale, il en existe d'autres, au contraire, où, par son abondance, par son rôle fonctionnel, elle doit être considérée comme l'élément constitutif du tissu.

Soit qu'elle se présente sous forme de bandes (ligaments vertébraux, cordes vocales, ligament stylo-hyoïdien, tendons des muscles lisses de la trachée) ; soit qu'elle se présente sous forme de membranes (vaisseaux, vessie, chorion de la trachée et des bronches, ligament du cou des quadrupèdes), l'importance anatomique et physiologique de la substance élastique domine et permet de donner à ces tissus le nom de « tissu élastique ». Si, à cette importance anatomique et physiologique, nous ajoutons celle que revêt le tissu élastique, dans certains cas pathologiques, nous comprenons pourquoi de nombreux auteurs se sont attachés à son étude.

En particulier, l'histogenèse de la fibrille élastique a fait l'objet de nombreux travaux. Mais, selon nous, cette histogenèse n'est pas encore déterminée de façon positive. Nous

n'en voulons pour preuve que la multiplicité des théories émises et le nombre de travaux qui se publient encore sur cette question.

Cela tient, croyons-nous, à l'imprécision, à la complexité de la méthode suivie et aussi au manque relatif de spécificité des colorants employés.

En effet, les techniques histologiques habituelles entraînent toujours des modifications d'ordre mécanique ou d'ordre chimique.

Elles ne permettent que bien difficilement de suivre les transformations successives des cellules. Il est impossible de fixer la part de l'influence qui revient au milieu, puisque celui-ci est un tout, dont la composition n'est souvent pas bien connue et dont on ne peut isoler les facteurs le constituant.

LA MÉTHODE DE CULTURE DES TISSUS éclairera les points obscurs que nous laisse l'histologie normale.

L'évolution et les différents stades de la formation des fibrilles élastiques seront facilement suivis. Les différents facteurs qui interviennent dans la composition du milieu pourront être isolés, et, par cela même, étudiés. D'autre part, aucune modification mécanique ne viendra fausser les résultats. Loin de nous la pensée d'imposer un parallélisme étroit entre ce qu'il est possible d'observer « in vitro » et ce qu'on observe « in vivo ».

Dans nos conclusions, nous tiendrons compte de tout l'artificiel apporté par le réseau de fibrine sur lequel se développent les tissus.

De ces remarques découle le PLAN de notre travail.

Le premier chapitre sera consacré à l'historique et aux généralités concernant le tissu élastique.

Nous examinerons, dans le second chapitre, les phénomènes histologiques de la formation des fibrilles et des fibres élastiques.

Nous réserverons tout un chapitre à l'influence considérable du milieu. Enfin, dans une dernière partie, nous suivrons l'évolution des fibres élastiques néoformées et nous déterminerons leur mode de dégénérescence.

Nous voulons, ici, remercier particulièrement M. LE PROFESSEUR GUSTAVE ROUSSY, MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE, DIRECTEUR DE L'INSTITUT DU CANCER, qui a bien voulu nous permettre de poursuivre l'étude de cette question dans ses laboratoires, à l'outillage si moderne et si précis, ce qui a considérablement diminué notre tâche. Nous lui adressons l'hommage de notre profonde reconnaissance, de notre entier et respectueux dévouement.

Nous adressons nos remerciements émus à notre Maître, M. LE PROFESSEUR JEAN VERNE, qui nous a indiqué ce sujet de travail et qui, tout au long de nos recherches, nous a prodigué ses conseils. Nous le prions de considérer cette étude comme étant la sienne. Nous ne saurions prouver toute notre reconnaissance à celui qui nous a guidés dans nos premiers travaux scientifiques et qui nous donne, chaque jour, des preuves de son amitié.

CHAPITRE PREMIER

PREMIERE PARTIE

HISTORIQUE

Par ce chapitre, nous avons voulu établir l'indécision forcée de notre esprit, qui suivit l'étude des travaux antérieurs.

La multiplicité des théories concernant l'histogenèse des fibrilles conjonctives, et, en particulier, des fibrilles élastiques, a entraîné la longueur de cet historique.

Certains auteurs admettant un parallélisme étroit, entre l'histogenèse des fibrilles élastiques et l'histogenèse des fibrilles collagènes, nous avons été amenés à parler de travaux concernant ce dernier point.

Il n'existe d'ailleurs en fait, que deux grandes théories ; mais chacune d'elles présente un grand nombre de variantes.

Pour l'une de ces théories, les fibrilles conjonctives sont d'origine cellulaire ; pour l'autre, cette origine ne se fait qu'aux dépens de la substance fondamentale inter-cellulaire. Telle était la situation de ce problème pour les anciens, telle elle est encore pour les modernes.

Nous croyons, qu'il n'existe qu'un seul auteur ayant exposé une théorie mixte.

En 1914 SERAPHINO D'ANTONA publie un important travail sur l'apparition des fibres conjonctives dans les épaissements athéroscléreux de l'aorte.

Le processus de la néoformation fibrillaire serait double, et s'effectueraient en deux périodes distinctes.

En premier lieu, dans la substance fondamentale granulo-fibrillaire, située entre les cellules de LANGHANS et dans la couche superficielle de l'intima, il s'opère une ordonnance des grains en un fin réseau irrégulier. Certaines trabécules de ce réseau, se transforment en longues fibrilles qui perdent leur aspect granuleux pour devenir lisses.

En second lieu, les cellules de LANGHANS perdent leurs plus fins prolongements, tandis que leurs ectoplasmes prennent un aspect fibrillaire et se différencient, ensuite, en courtes et épaisses fibrilles.

La genèse des fibrilles élastiques, aux dépens de la substance fondamentale intercellulaire était déjà soutenue en 1875 par RANVIER, pour qui : « Les fibres élastiques se montrent « formées de grains réfringents lenticulaires ou sphériques. « plaqués dans une substance beaucoup moins réfringente. »

DUBREUIL (1913), comme son maître RENAUT, ne doute pas que « les fibrilles conjonctives ne soient formées par la différenciation, au sein de la substance collagène, sans que la « cellule conjonctive y participe autrement qu'en fournissant « au tissu, dans sa substance fondamentale, les constituants « chimiques nécessaires à cette édification. »

Plus tard, cet auteur, en collaboration avec A. LACOSTE, publie, à la Société de Biologie de Bordeaux, une note d'où il ressort que « la genèse et la disposition des fibres et des lames « élastiques ne permettent d'établir aucun lien génétique « direct entre elles et des cellules conjonctives (prétendues « élastoblastes) ». Enfin, il admet que certaines fibres réticulées sont des formations pré-élastiques.

En 1916, BAITSSELL, d'une part, et NAGEOTTE, d'autre part, exposent une théorie à peu près semblable. Selon eux, les fibres conjonctives ne sont dues qu'à une transformation d'un filament de fibrine, et NAGEOTTE, en particulier, pense que les substances conjonctives sont des « coagulums albuminoïdes du milieu intérieur ».

La genèse des fibrilles conjonctives aux dépens du protoplasme cellulaire a de nombreux partisans ; mais, certains n'ont décrit que des rapports de la fibrille avec la cellule ou avec la membrane cellulaire.

En 1902, MALL rencontre les fibrilles élastiques dans l'exoplasme cellulaire. Il ne constate jamais de grains et fait remarquer que, sous cette forme, il ne peut s'agir que d'une coupe optique de la fibrille élastique. Pour lui, il n'existerait pas d'élastoblastes spécifiques.

Un point de vue voisin, mais non absolument identique, est celui de HANSEN. Cependant, pour celui-ci, la fibrille argyrophile serait un stade intermédiaire entre la fibre élastique et la fibre collagène.

Les fibrilles élastiques, pour SPALTENHOLZ (1906), se trouvent dans le protoplasme cellulaire, jamais sous forme de grains, toujours à l'état de fibres, et cela très précocement (embryon de poulet de quatre jours).

Nous voulons citer les travaux de GOLOWINSKI (1907), quoique celui-ci étudia seulement la genèse des fibres collagènes. Mais il fut le premier, croyons-nous, à employer le terme d'épicellulaire, pour indiquer le développement des fibres dans les cellules, et plus exactement, à la surface du cytoplasme. Cette observation fut confirmée, la même année et en 1910, par MÈVES.

GARDNER (1917), DE KERRILY (1924), RIEDEL (1925), tous partisans de l'origine cellulaire, rencontrent les premiers éléments élastiques sous forme de grains. Ceux-ci, secondairement, se juxtaposeraient, pour constituer les fibres.

En 1920, HUECK exposa une théorie, qui eut pendant longtemps les faveurs des histologistes. La portion du protoplasme, qui correspond à l'exoplasme de STUDNICKA, se transformerait en formation fibrillaire, soit bandes, soit travées, qui, suivant les conditions mécaniques, s'imprègneraient soit de collagène, soit d'élastine.

Dans le cartilage de la trompe d'Eustache, remarque

H. LANES, les fibres élastiques, sont en rapport, non seulement avec les membranes cellulaires, mais aussi avec le protoplasme. Il conclut que, très vraisemblablement, ce sont les filaments ergastoplasmiques, qui engendrent directement ou indirectement les fibres élastiques. Citons encore, SCHWANN, HESSLING, REMAK, HENLE, KÖLLIKER, SCHULTZE, GERLACH, RETTERER, qui ont constaté une production fibrillaire dans le protoplasme cellulaire.

Mais nous voulons mettre en relief celui qui, en France, s'est particulièrement attaché à cette étude : M. E. LAGUESSE.

Dans une série de notes parues en 1903, 1907, 1912, 1914, 1923, 1924, il précise sa pensée sur cette question si controversée.

Les fibrilles, dit-il « prennent naissance dans l'épaisseur
« de l'exoplasme, qu'il soit encore sous forme d'amas irréguliers, de coques complètes, de plaques ou de simples
« traînées à la surface de la cellule, de prolongements aliformes ayant subi la différenciation complète, encore individualisées ou fusionnées. Une fois constituées, ces fibrilles
« peuvent continuer à croître indéfiniment en largeur et en
« épaisseur, aux dépens de cette seule substance fondamentale ou d'autres exoplasmes et sans l'intervention du chondriome ».

Etudiant plus à fond le mécanisme de la formation des fibrilles, il écrit : « On peut supposer, que les micelles cristallines allongées, constituant de l'exoplasme, sont d'abord
« un peu dirigées en tout sens, mais que, lorsqu'arrive jusqu'à
« elles, en un point donné, l'extrémité d'une fibrille en voie
« d'accroissement, elles subissent, dans la direction de cette
« extrémité, une sorte d'attraction et s'orientent en fibres
« parallèles, qui viennent s'ajouter sans cesse au bout de la
« fibrille en causant ainsi l'accroissement rapide. »

A côté de ces résultats, notons ceux obtenus déjà, dans ce domaine, par la méthode de culture des tissus.

Beaucoup d'auteurs n'ont pas mentionné la production de fibrilles « in vitro ».

Cependant, en 1916 et de nouveau en 1918, G. LÉVI signale l'apparition rare de longues fibrilles dans les cultures. Il ne peut se prononcer sur la nature de ces éléments et n'ose les assimiler ni aux fibres conjonctives, ni aux fibres réticulées. Etudiant ces dernières, il les identifie, par leurs caractères physiques ou mécaniques, aux fibres élastiques.

MARGARET REED LEWIS (1917) publie une longue étude sur l'apparition des fibrilles dans les cultures de tissus provenant d'embryons de poulet. Les cultures sont faites sur un milieu constitué de liquide de Locke, additionné de 10 % de jus d'embryon et de 0,25 % de dextrose. Les fibrilles de l'explant ne s'accroissent pas et n'émigrent que très faiblement dans la zone de pousse. Dans cette zone, au contraire, il est facile d'apercevoir, au bout de quelques heures, des fibrilles néo-formées. Après 48 heures, elles abondent. Elles ne tardent pas à devenir de plus en plus indépendantes du cytoplasme. Elles augmentent de volume, se rapprochent les unes des autres, constituant de véritables faisceaux. Si, au lieu d'embryons de huit jours, on se sert d'embryons plus âgés (de dix à douze jours), la pousse et l'augmentation de volume sont encore plus rapides.

CHLOPIN (1922), élève de MAXIMOW, signale des tonofibrilles, dans le cytoplasme des fibroblastes, tonofibrilles observées l'année suivante par MAXIMOW lui-même dans les cultures de tissu lymphoïde.

FRIED WILH LUDWIG attire l'attention sur l'apparition de fibrilles, dont la nature n'est pas déterminée, dans des cultures faites sur un milieu, composé de Ringer et de jus d'embryon. Pour lui, les fibrilles se forment dans l'ectoplasme, le noyau devant être considéré comme un centre énergétique qui active la croissance des fibrilles. En l'absence de noyau, pas de fibrille.

LIVINI, après étude de fibrilles élastiques dans les cultures de tissu, considère ces fibrilles comme un produit de transformation de la totalité de la substance cellulaire, avec agglutination de nombreux grains. Ces grains, primitivement dis-

persés dans la cellule, se réunissent secondairement en petits groupes, irrégulièrement disséminés. Entre temps « le corps cellulaire s'allonge et s'amincit, en se réduisant, en un simple rebord du noyau, se continuant dans les prolongements ». Puis la structure granuleuse commence à disparaître, tout l'élément apparaît uniformément coloré, « l'emplacement du noyau étant représenté par une petite aire claire allongée ». Cette aire s'estompe et à la fin de l'évolution on n'en trouve plus trace.

MAC RIMEY met en évidence la néo-formation de fibres argyrophiles, dans les cultures de ganglions lymphatiques du lapin de trois jours. Ces fibres sont en relation avec celles du fragment, et se transforment en fibres collagènes pendant le huitième jour de culture. Les fibres similaires apparaissent à la même date.

En 1929, BLOOM-WILLIAM fait paraître un long article sur les cultures du cœur et d'aorte embryonnaires.

Il ne se prononce pas nettement sur la genèse des fibrilles élastiques. Il ne peut dire, si ces fibrilles naissent d'éléments distincts ou d'un précurseur commun aux fibres élastiques et aux fibres collagènes.

Les fibres élastiques seraient toujours extra-cellulaires lorsqu'elles deviennent colorables par la fuschine-résorcine.

Pour lui, enfin, les battements cardiaques ont une grosse influence. Les fibrilles élastiques sont toujours beaucoup plus nombreuses dans les cultures de cœur présentant des contractions. Elles sont plus épaisses contre les lignes qui sont attirées par le muscle cardiaque contractile.

Au contraire, PORTA (1930) soutient que la différenciation des fibres élastiques est indépendante de la contraction cardiaque. Cet auteur cultive, selon la méthode de Carrel, des fragments de cœur et de téguments d'embryons de poulet ayant sept jours d'incubation.

Il distingue un réseau de fibrilles très longues, homogènes, presque rectilignes, fortement colorées, qui semblent, en

quelques endroits, entrelacées avec des fibres obliques plus fines.

Dans ce chapitre, nous nous sommes bornés à exposer les diverses théories émises au sujet de la genèse des fibrilles élastiques. Nous nous en réservons la critique, lorsque nous exposerons nos propres observations. De même, nous aurons encore à revenir sur certaines théories, concernant des points plus particuliers ou sur certains facteurs influençant la genèse élastique.

DEUXIEME PARTIE

GÉNÉRALITÉS SUR LA SUBSTANCE ÉLASTIQUE

La substance élastique se présente de façons différentes suivant les tissus et les organes. Les facteurs mécaniques et physiques modifient toujours son aspect, surtout dans les tissus élastiques. Aussi, pour déterminer les caractères spécifiques des fibres élastiques, nous les examinerons dans les tissus conjonctifs lâches, où elles forment un « réseau continu sans extrémité libre » (PÉTERSEN).

Remarquons que leur aspect varie, d'ailleurs, suivant le mode de leur préparation. Si celle-ci est faite de manière à conserver tous les rapports et l'état de tension normal, les fibrilles élastiques sont rectilignes ; si cette condition n'est pas satisfaite, elles sont « en flexuosités pressées ou en vrilles de vigne » (BRANCA). Sous ces deux formes, elles sont toujours homogènes, sans striation, sans fibrillation. Fréquemment, elles se divisent. Leurs branches de division peuvent, à leur tour, s'anastomoser et constituent alors une fibre plus épaisse. Leur coupe transversale est ronde et leur diamètre variable. Telle est la description de la fibre élastique que donne la majorité des auteurs. Cependant, MALL (1896) décrit, à la fibre élastique, une partie axiale et une partie périphérique. Pour DUBREUIL et LACOSTE, la fibre proprement dite est entourée d'une gaine ductile, à peine teintée par les colorants spécifiques de l'élastine. Les fibres élastiques en dégénérescence se

fragmentent et se rétractent en grains. C'est l'aspect normal des fibres dans le cartilage épiglotique du bœuf (SCHAFER, 1922).

Caractères physiques. Leur principale propriété est l'élasticité. C'est ce qui a permis de donner ce nom spécial à cette variété de fibres conjonctives. En effet, si on applique aux extrémités de ces fibres des forces de traction, elles se distendent, elles s'allongent, pour reprendre leur volume et leur dimension primitive, dès que cesse cette traction. Elles se déchirent facilement, dès que les forces appliquées dépassent leur seuil de résistance. Comparativement aux fibres collagènes, elles sont moins résistantes à la rupture.

Un autre caractère physique est leur biréfringence qui ne se manifeste que lorsqu'elles sont tendues. En vrilles, elles sont optiquement isotropes.

Rôle physiologique. — De ces caractères découlent leurs propriétés physiologiques. Ces fibres contribuent, par leur élasticité, à ramener les organes à leur forme primitive. RANKE explique le rôle physiologique du tissu élastique par sa résistance aux déformations latérales. REDENZ ne partage pas cette manière de voir.

STERNBERG (1925) s'est opposé à ce rôle purement mécanique et, pour lui, les fibres élastiques sont un support pour les tissus et le collagène.

Caractères chimiques. — L'élastine est de composition variable, suivant sa provenance. UNNA distingue même l'élastine et l'élacine, qui dériverait du premier corps.

Quoi qu'il en soit, on peut la considérer comme un protéinoïde (STRAUSS et COLLIER, 1924) très pauvre en soufre, riche en acides aminés.

Cette substance est soluble dans l'eau à l'ébullition prolongée et sous forte pression.

Elle ne se gonfle pas par les acides dilués ; bien plus, ceux-ci, même à chaud, ne l'attaquent que très difficilement. Au con-

traire, les acides et les alcalins forts, de même que la pepsine et la trypsine, l'attaquent aisément,

Elle donne la réaction du biuret.

HUECK (1920) admet les rapports étroits entre le collagène et l'élastine, avec passage facile d'un état à l'autre.

Coloration. — Les deux principales méthodes (ORCÉINE-WEIGERT) sont basées sur l'affinité des fibres élastiques pour les corps fortement oxydés, affinité qui provient de leur richesse en acides aminés réducteurs.

Les essais de coloration basique de MÖLLENDORF (1924) ont montré qu'il s'agissait d'une précipitation à la surface des fibres.

CHAPITRE II

Phénomènes Histologiques
de la
Formation des Fibrilles Elastiques
dans les Cultures de Tissus
“ in vitro ”

(Recherches personnelles)

MATÉRIEL ET TECHNIQUE

En culture de tissus « in vitro », nous avons pu obtenir la genèse de fibrilles élastiques à partir de tous tissus présentant eux-mêmes la substance élastique ; mais, nous nous sommes surtout servis de fragments d'aorte, de cœur et de peau d'embryons de poulets, accessoirement d'autres animaux, tels que le rat ou le cobaye.

Les embryons étaient d'âges différents. Nous avons employé non seulement des embryons de huit, de dix, de seize jours, mais encore des embryons près du terme.

Nous avons dû, aussi, modifier la technique habituelle des cultures de tissus. En effet, dans un milieu constitué de plasma et de jus embryonnaire, les formations fibrillaires sont rares. Ceci est dû au fait que ce milieu est trop riche, trop favorable à la croissance. Les divisions cellulaires se font très rapidement dans ce cas. Or, on connaît les relations, qui existent entre l'activité de reproduction et l'activité spécifique des cellules.

Si PRENANT, le premier, a émis cette idée, elle a été démontrée en 1929 par FISCHER et PARKER. Ces auteurs ont fait des cultures dites de « vie au ralenti ». Dans ces conditions, ils ont vu, dans des cultures d'osteoblastes, se développer un tissu, dont la coupe ressemblait à une coupe de tissu osseux. DOLJANSKI (1930), a obtenu, par la même technique, la repigmentation de l'épithélium iridien et la production de glycogène, dans les cultures pures d'épithélium hépatique.

Le même phénomène se produit en ce qui concerne les fibres élastiques : leur différenciation est en rapport inverse du coefficient mitotique. De plus, la technique habituelle entraîne

la nécessité de repiquages fréquents, tout à fait incompatibles avec le but de nos recherches.

Le problème consistait donc, à diminuer l'activité caryocinétique, ce qui entraînerait la prolongation de la vie des cellules.

Nous avons atteint cet objectif en pratiquant les cultures dites de « vie au ralenti ».

Nous avons, d'abord, employé la méthode de FISCHER : c'est-à-dire que nous avons fait des cultures sur un milieu constitué de plasma pur, coagulé par une trace de jus embryonnaire. Cette culture était lavée, tous les trois jours, avec du liquide de Tyrode. On la recouvrait, ensuite, de plasma hépariné. Nous avons pratiqué une seconde technique, dérivée de celle-ci, où seulement nous remplaçons le plasma par du Tyrode.

Enfin, nous avons fait des cultures en goutte pendante sur plasma contenant très peu de jus.

Pour ralentir davantage la vie cellulaire, nous avons placé les cultures, après deux jours d'étuve à 38°5, dans une autre étuve réglée à 20-25°. Les produits de déchet étaient enlevés, par des lavages au Tyrode, tous les trois jours. Nous avons ainsi des cultures, qui ne se développaient que très lentement, et, dans lesquelles les signes de dégénérescence n'apparaissaient que fort tardivement (après un mois et plus).

Nous avons été amenés à faire, également, des cultures sur sérum. Ce sérum provenait soit de poule, soit de rat. Il était additionné ou non de jus d'embryons.

Nous ne voulons pas terminer cette partie sans faire remarquer que cette condition quasi absolue de vie au ralenti est en faveur de l'origine cellulaire des fibrilles, théorie que nous exposerons plus loin. On ne comprendrait que bien difficilement l'action qu'aurait l'hypergénèse cellulaire s'il ne s'agissait que d'une condensation ou d'une précipitation de la substance fondamentale.

Au bout d'un nombre de jours, variable avec le but pour-

suivi, les cultures étaient soit examinées directement, soit fixées et colorées.

Divers fixateurs ont été employés. Les meilleurs résultats nous ont été donnés par le fixateur de von TELLEYSNISKI. Avec ce fixateur, la précipitation du plasma était moindre, ce dernier par suite se colorait moins, et ne gênait pas l'examen. Pour obtenir une bonne coloration il était nécessaire de ne pas poursuivre la fixation trop longtemps.

Deux méthodes de coloration nous ont été particulièrement utiles : celle à l'orcéine et celle au Weigert.

La méthode à l'orcéine employée a été celle décrite en 1923 par ARGAUD. C'est une solution d'orcéine additionnée de 5 % d'acide chlorhydrique. Cette méthode a l'avantage de colorer électivement, en brun rougeâtre les fibres élastiques, même les plus fines et les plus nouvellement formées. La méthode à la Fuchselline de WEIGERT que nous avons suivie a été normale. La résorcine, employée pour sa fabrication a été d'excellente qualité, facteur qui détermine la spécificité du colorant. Nous avons pratiqué une forte surcoloration, pour différencier longuement ensuite. Parfois cette différenciation a dû être faite à chaud.

Nous avons aussi été entraînés à effectuer des imprégnations à l'argent, soit selon la technique de DEL RIO HORTEGA, soit suivant celle de BIELCHOWSKI.

ÉVOLUTION D'UNE CULTURE DE TISSU ELASTIQUE

Un fragment d'aorte d'un embryon de poulet ayant huit jours d'incubation, mis en culture, sur un milieu composé de sérum et de jus embryonnaire, nous permettra de suivre, très exactement, tous les stades de la genèse élastique. C'est donc une telle culture que nous prendrons comme type de description. Son évolution peut être divisée, un peu artificiellement il est vrai, en trois périodes.

1° *Premières ébauches fibrillaires.* — Dans la première période correspondant au premier jour de culture, nous assistons à la formation des fibrilles élastiques intra-cellulaires. En effet, après seulement quelques heures d'étuve, des éléments cellulaires émigrent de l'explant dans le sérum.

Ces cellules, séparées les unes des autres, de forme étoilée et irrégulière, au protoplasme légèrement granuleux, ne diffèrent en rien de fibroblastes ordinaires et il est impossible, à ce moment, de prévoir quelles seront les cellules qui engendreront des fibrilles.

Reprenons notre préparation douze heures après la mise en culture. Il se trouve autour de l'explant, une aréole de croissance formée de fibroblastes, dont quelques-uns sont en voie de division mitotique. Cette pousse est lâche, à la périphérie, très dense, au contraire, près du fragment. Si nous examinons, à un fort grossissement, les éléments constitutifs de cette dernière zone, nous constatons que le protoplasme de quelques cellules présente une structure fibrillaire. Ces fibroblastes n'ont aucun autre caractère particulier. Tout au plus, pourrait-on parler de prolongements plus grêles, plus fins, quoique

nous avons trouvé une structure fibrillaire dans des fibroblastes, dont le protoplasme s'étalait largement. Cette structure fibrillaire est due à l'existence, dans l'intérieur du cytoplasme, de longues fibrilles occupant toute la cellule ou une partie de celle-ci, et s'étendant dans les prolongements. Ces fibrilles, visibles sur la culture vivante, grâce à leur forte réfringence, se trouvent à la périphérie des cellules, dans cette portion du cytoplasme, à laquelle STUNICKA a donné le nom d'ectoplasme. Elles forment un revêtement intérieur de la cellule, doublant la membrane cellulaire. (Pl. I. Fig. 1 et 2).

Dans le plan vertical, nous les rencontrons à la surface des cellules. Elles sont épicyellulaires. Une disposition analogue des fibrilles collagènes avait été remarquée, en 1907, par GOŁOWSKI, dans le cordon ombilical du fœtus âgé.

Ces éléments, qui, comme nous le démontrerons, sont de nature élastique, apparaissent toujours sous forme de longues fibrilles, régulières, lisses, presque constamment rectilignes et *jamais* sous forme de grains.

D'autre part, d'après leur aspect, il est impossible de les concevoir, comme une juxtaposition de grains placés les uns à côté des autres. S'il en était ainsi, les fibrilles auraient un aspect moniliforme et on trouverait à la périphérie de la culture, des cellules présentant ces grains non encore réunis en fibrilles. Nous n'avons jamais fait cette observation. Les grains que nous avons rencontrés sur les fibrilles, se sont révélés après coloration, comme étant des chondriocotes.

Ainsi les premières ébauches fibrillaires apparaissent très tôt dans les cultures, entre la douzième et la vingt-quatrième heure d'étuve. Pour les auteurs, qui ont étudié la genèse élastique dans les cultures « in vitro », celle-ci se ferait beaucoup plus tardivement. Pour PORTA, la différenciation ne se ferait guère que le sixième jour, et pour BLOOM-WILLIAM elle se ferait également vers cette époque, quoiqu'un peu plus rapidement. Ceci est dû au fait, que ces auteurs parlent seulement de la formation du réseau élastique et n'ont pas remarqué la genèse de fibrilles intra-cellulaires.

Un fait nous a frappés quant à la date d'apparition des fibrilles : la genèse des fibrilles se fait soudainement et est simultanée dans un grand nombre de cellules. Ainsi, alors qu'à la douzième heure d'une culture d'aorte, le protoplasme des fibroblastes néo-formés, ne présentait aucune fibrillation, soudainement à la seizième heure un grand nombre de cellules présentent de longues fibrilles. Nous insistons sur cette apparition des fibrilles dans un grand nombre de fibroblastes à la fois, car ce phénomène nous permet de préciser notre pensée sur le processus histologique de la genèse élastique « *in vitro* ».

De quel organe cellulaire, prennent naissance les fibrilles ? Il est difficile d'admettre une action directe du noyau puisque les fibrilles sont indépendantes de la masse nucléaire. Si, dans quelques cellules, des rapports directs existent entre le noyau et les fibrilles, dans beaucoup d'autres, cette interdépendance ne peut être mise en évidence. Mais nous nous garderons bien d'éliminer « *a priori* » une action indirecte du noyau sur la production fibrillaire. Nous pouvons faire les mêmes remarques en ce qui concerne le chondriome. Sur la culture vivante les chondriosomes sont dispersés dans les cellules. Ils peuvent être très loin des fibrilles, ou, au contraire, être en contact avec elles. Dans ce dernier cas, en examinant longuement la préparation (le microscope étant placé dans une étuve réglée à la température de l'animal qui a fourni l'explant), nous avons observé un déplacement des chondriosomes qui perdent leurs rapports avec les fibrilles et s'en détachent complètement. La même remarque avait été faite, en 1917, par MARGARET REED LEWIS, dans son étude sur le développement en culture des fibres conjonctives de l'embryon de poulet. Le chondriome n'a donc, qu'une action secondaire dans la genèse de ces fibrilles, et, il est impossible, en tous cas, d'admettre comme le prétendait MEVES, que la fibrille tire son origine du chondriome superficiel.

La théorie de SCHMIDT et celle de LAGUESSE paraissent correspondre beaucoup mieux à nos observations. SCHMIDT résume

sa théorie en cette phrase typique : « L'apparition des structures histologiques particulièrement des fibrilles est un processus parent de la cristallisation : c'est une cristallisation micellaire. » Cette théorie défendue, en outre, par NÄGELI-HERINGA-HERGOZ, explique bien l'apparition simultanée des fibrilles dans un grand nombre de cellules.

Quoiqu'il en soit et comme conclusion à ce chapitre nous dirons que la formation des fibrilles, sans l'intervention directe du noyau ou du chondriome, en pleine zone ectoplasmique, est manifeste, et cela, en l'absence de tout plasma ou substance coagulable (les cultures étant faites sur un sérum pur).

Nature des fibrilles néoformées. — Il nous reste à déterminer la nature des fibrilles et à les différencier, d'une part, des fibres collagènes, d'autre part, des fibres réticulées.

Ce diagnostic différentiel ne pourra être fait à cette période de début que par les différences de coloration. Il est cependant facile et sera confirmé ultérieurement par la morphologie et la distribution du réseau élastique.

Les fibrilles de nouvelle formation, dans les cultures de tissu élastique, s'imprègnent très bien par le carbonate d'argent ammoniacal. Nous avons utilisé la technique de DEL RIO HORTEGA et celle de BIELCHOWSKI. Cette argyrophilie des fibrilles nous permet de confirmer nos observations faites sur les cultures vivantes, en ce qui concerne leur aspect et leur disposition. Mais, dès cette période, elles sont aussi positives à d'autres colorants — en particulier aux *colorants spécifiques de l'élastine* — fuchselline de WEIGERT ou ORCÉINE. Nous savons bien que la spécificité de ces colorants n'est que relative, mais, comme contre-épreuve, nous avons fait des cultures de tissu tendineux, en nous plaçant dans les mêmes conditions. Les fragments de tendons, prélevés sur des embryons de poulet du même âge, étaient cultivés sur sérum et selon la technique de vie au ralenti. Ces cultures, fixées et colorées au Weigert ou à l'orcéine, ne présentaient aucune formation fibrillaire.

Par contre, l'existence de nombreuses fibrilles intra-cellulaires était révélée par une coloration au Mallory et au Van Gieson, c'est-à-dire aux colorants spécifiques du collagène.

De plus, ces derniers colorants, appliqués aux cultures de tissu élastique, n'ont pas coloré les fibrilles de nouvelle formation.

Nous pouvons résumer en un tableau ce faisceau de preuves démontrant la nature élastique des fibrilles qui prennent naissance dans les cultures « in vitro » de tissu élastique :

Fibrilles provenant d'une culture de tissu élastique	Weigert	Orcéine	Mallory	Van Gieson
	+	+	—	—
Fibrilles provenant d'une culture de tissu tendineux	—	—	+	+

Le diagnostic différentiel entre ces fibrilles et les fibres réticulées est aussi facile. Précisons que, sous ce nom, nous ne comprenons que les éléments constitutifs du réticulum décrit par MALL, éléments qui ne se trouvent que dans quelques organes. Nous ne pouvons suivre les auteurs, qui sous ce nom, décrivent une disposition particulière des fibrilles conjonctives. Les fibrilles réticulées, notamment celles du tissu hépatique et du tissu splénique, ne se colorent, ni par le Weigert, ni par l'orcéine. En effet, des cultures de fragments de tissu hépatique ou de tissu splénique ne nous ont jamais montré de fibrilles colorées par un de ces colorants. Ceci nous prouve aussi que le nom de fibrilles réticulées doit être réservé à une catégorie bien définie de fibrilles, puisque celles-ci ont une composition chimique particulière. Pour la même raison, on ne peut admettre une identité absolue entre fibres élastiques et fibres réticulées, car s'il y a pour certaines d'entre

elles identité physique ou mécanique, il y a cependant, une différence de nature chimique.

La coloration, qui nous a permis de faire le diagnostic de la nature des fibrilles observées, nous permettra aussi d'étudier plus complètement leurs caractères. Faisons remarquer qu'à ce point de vue et à cette période, l'orcéine chlorhydrique d'ARGAUD nous a donné de meilleurs résultats que la fuchseline de WEIGERT.

Sur un fond particulièrement incolore, les éléments élastiques se détachent sous forme de lignes brunes, rougeâtres, très fines, uniformes, sans striation, sans granulation. Chaque élément est indépendant de ses voisins, et, ses dimensions sont des plus variables, tant en épaisseur, qu'en longueur.

Nous concluons, donc, à la genèse de fibrilles élastiques intra-cellulaires dans les cultures de tous tissus, présentant eux-mêmes la substance élastique, à l'exclusion de tout autre tissu.

En effet, nous ne nous sommes pas bornés à l'étude de l'évolution d'une culture d'un fragment d'aorte. Nous avons, dans les mêmes conditions, mis en culture des fragments de peau et de cœur d'embryons de poulets. Nous avons encore assisté à l'élaboration de fibrilles élastiques. Celles-ci cependant étaient beaucoup moins nombreuses ; le fait est dû, à la diversité des éléments constitutifs de ces tissus, et à leur plus faible teneur en élastoblastes.

On peut, comme nous le verrons, ultérieurement, modifier, dans la zone de croissance, le rapport entre élastoblastes et les autres cellules du tissu. On détermine, par cet artifice une véritable hypergenèse élastique.

Ces mêmes remarques peuvent être faites en ce qui concerne les caractères de la croissance des fibres élastiques dans les cultures de tissus d'embryons de cobaye ou de rat. Toutefois, les fibrilles néo-formées étaient toujours beaucoup moins nombreuses que dans les cultures de tissus d'embryons de poulet.

Dans toutes ces expériences, le rapport étroit qui existe,

entre la genèse élastique et l'âge des embryons qui ont fourni l'explant, a attiré notre attention.

Plus un embryon est âgé et plus tardivement apparaissent les premières ébauches fibrillaires. Ainsi, il est difficile de constater la présence de fibrilles élastiques avant le troisième ou le quatrième jour de culture, lorsque l'explant provient d'un embryon de poulet, ayant 16 jours d'incubation. La durée de cette période de latence est encore augmentée, lorsqu'il s'agit d'embryons près du terme ou de nouveau-nés. Par contre, les fibrilles une fois constituées se développent très rapidement, et deviennent bientôt fortement positives aux colorants spécifiques de l'élastine.

2° *Formation du réseau élastique.* — Reprenons encore, notre culture vivante d'un fragment d'aorte sur sérum — culture qui nous a déjà servi comme type de description. Dans une *seconde période* s'étendant de la vingt-quatrième heure au quatrième jour, les fibrilles élastiques néo-formées évoluent et donnent naissance à un réseau élastique.

La cellule, dont l'ectoplasme présente une nette structure fibrillaire, augmente de volume, tandis que de très longs et très fins prolongements émigrent dans le milieu. Les fibrilles suivent ce mouvement protoplasmique et s'étendent dans les prolongements les plus effilés. Plusieurs élastoblastes se réunissent alors par de véritables ponts ectoplasmiques. Dans ceux-ci, les fibrilles continuent toujours leur mouvement de progression et viennent prendre contact avec les fibrilles de la cellule voisine. (Pl. II. Fig. 3). Ainsi se constituent de très longues fibrilles s'étendant d'une cellule à une autre.

Un second processus évolue en même temps que le premier et parallèlement à lui. Nous avons vu que les fibrilles étaient épicyellulaires et toujours sur les bords de la cellule. Bientôt elles percent la membrane, soit au niveau des bords de la cellule, soit, même au niveau d'une de ses faces. (Pl. II. Fig. 3). Elles s'allongent, conservent pendant quelque temps encore leur rapport avec les cellules, s'en détachent pour devenir

libres. Si par un procédé quelconque on entraîne, à ce moment précis, la mort de la cellule, des signes de dégénérescence apparaissent rapidement. Le noyau, que nous apercevions à peine, se dessine nettement, les longs prolongements cytoplasmiques se rétractent et il est facile de constater, que la fibrille néo-formée ne suit en aucune façon ce mouvement de recul, et reste à la place qu'elle occupait dans la substance fondamentale. (Pl. II. Fig. 4). Ce fait prouve bien l'indépendance actuelle de la fibrille vis-à-vis de la cellule.

Le développement des fibrilles élastiques néo-formées se continue. Ces éléments paraissent avoir une vie propre, augmentent de volume, s'anastomosent pour constituer, d'abord, des fibres, et ensuite un réseau. (Pl. III. Fig. V). Leur augmentation de volume se manifeste très rapidement et se fait tant en largeur qu'en épaisseur. Leur réfringence s'accroît. Mais cette croissance n'est pas telle qu'on puisse déjà donner à ces fibrilles le nom de fibres. Dans certains points de la préparation, il est toutefois possible de rencontrer de véritables fibres élastiques. Leurs caractères nous montrent nettement leur mode de formation. Elles résultent de l'anastomose, de la jonction de plusieurs fibrilles. Celles-ci se réunissent par leurs extrémités ou bien s'accrochent les unes contre les autres, soit dans toute leur longueur, soit dans une partie seulement de leur étendue. Ce dernier mode de formation des fibres entraîne un aspect penicillé tout à fait spécial et caractéristique des fibres de nouvelle formation.

On remarquera cet aspect sur les clichés (Pl. IV. Fig. 8, et Pl. V. Fig. 9), qui montre la genèse de grosses fibres, par l'anastomose de nombreuses fibrilles.

Assez souvent, nous avons observé la formation de fibres aux dépens de fibrilles intra-cellulaires, et surtout, au moment où les cellules étant réunies par leurs ponts protoplasmiques, les fibrilles de cette zone entrent en relation avec les fibrilles des autres cellules. Il n'est pas rare de trouver trois ou quatre fibrilles se prolongeant en une seule fibre dans une cellule voisine. Il n'en demeure pas moins que ce dernier processus

est relativement peu fréquent, et que, en général, les fibrilles ne commencent à s'anastomoser qu'étant devenues extra-cellulaires. Il semble, qu'ayant perdu leur appui, elles cherchent support les unes sur les autres.

Quoiqu'il en soit, on doit considérer la fibre élastique non comme une entité, un élément princeps, mais comme la résultante de plusieurs fibrilles, dont la disposition et les dimensions varient sans cesse, tant que la culture reste vivante.

De ce dernier caractère découle la formation du *réseau élastique*. En effet, les fibres elles-mêmes se divisent, s'anastomosent, se réunissent entre elles, composant un réseau dont les mailles irrégulières sont de dimensions très variables. Disons tout de suite que la forme de ce réseau change suivant, d'une part, le milieu de culture, d'autre part, l'état de tension des fibres. Nous étudierons ultérieurement l'influence de ces conditions sur la genèse des fibres et la disposition du réseau.

Il est donc facile de concevoir ce que présentera une culture d'un fragment d'aorte sur sérum, après trois jours d'étuve. L'examen de la culture vivante, nous permet de distinguer deux sortes de fibrilles : les unes, intra-cellulaires, dans les cellules jeunes, à la périphérie de la préparation ; les autres, extra-cellulaires, au voisinage de l'explant. Une coloration à la fuchselline de WEIGERT, ou à l'orcéine, nous montrera d'une façon parfaite les caractères morphologiques de tous ces éléments. D'ailleurs, il sera impossible de suivre avec la coloration tous les liens, toutes les relations qui existent entre ces deux variétés de fibrilles et qui marquent de façon si nette leur évolution. Nous rencontrons, en effet, un stade où la fibrille n'est plus ou n'est que très faiblement positive aux colorants spécifiques de l'élastine. Ce stade correspond au moment où la fibrille commence à émigrer dans la substance fondamentale. Mais, et, nous insistons sur ce point, l'examen, exposé ci-dessus de la culture vivante, nous a paru suffisamment démonstratif, pour qu'il ne puisse y avoir aucun doute. Au surplus, la fibrille va bientôt redevenir positive au colorant.

Cette affinité au Weigert commence, par les bords de la fibrille pour l'envahir, ensuite, uniformément.

Examen de la même culture colorée par le Weigert. — Où se trouvent les fibrilles élastiques ? C'est dans la zone immédiatement en contact avec l'explant qu'elles sont le plus nombreuses. Ces éléments constituent un riche réseau, sans extrémité libre, se prolongeant avec le réseau du fragment. Aspect tout à fait analogue à ce qui existe « in vivo », où, les fibrilles élastiques, comme l'a montré PETERSEN, forment toujours un réseau continu.

3°. Dans les cultures plus âgées, correspondantes à la troisième période qui s'étend, depuis le sixième jour jusqu'à l'instant où apparaissent les signes de dégénérescence, nous pouvons étudier beaucoup plus facilement et le réseau, et le caractère des fibrilles.

Lorsque nous parlons de réseau à propos des cultures de tissu élastique sur sérum, il faut bien se garder de croire à l'existence d'un réseau à larges mailles, comme nous le trouverons dans les cultures faites sur plasma. Les fibrilles élastiques s'orientent, cherchant à prendre contact les unes sur les autres. Elles entraînent ainsi la formation de véritables lames élastiques. Il existe donc, près du fragment mis en culture, une épaisse zone membraneuse élastique, formée de longues fibrilles, toutes orientées dans le même sens. A l'intérieur de cette zone, de nombreuses fibrilles plus courtes, plus fines se développent, en s'appuyant sur ce substratum et en formant de très petites mailles. Enfin, à la périphérie de la préparation on ne trouve pas de réseaux constitués de fibrilles isolées les unes des autres, mais un réseau composé de faisceaux de fibrilles prenant appui sur d'autres faisceaux.

Cultures sur plasma. — L'explant est toujours un fragment d'aorte. La technique sera identique à celle utilisée pour les cultures sur sérum. Autour du fragment existe un réseau élastique, dont les larges mailles sont limitées par de longues

fibres rectilignes, non orientées, très positives au Weigert. Entre celles-ci on peut trouver des fibres plus petites anastomosées et réunies entre-elles. Un autre réseau plus excéntrique est constitué par de petites fibres souvent disposées en spirales ou en vrilles de vigne — moins fortement colorées.

En se rapprochant encore plus des bords de la préparation, on rencontre un tissu, où les éléments élastiques prennent la forme de ceux décrits à la seconde période; c'est-à-dire que nous trouvons à la fois des fibrilles intra-cellulaires et de très jeunes fibrilles extra-cellulaires, très difficilement colorables par le Weigert. Aussi pouvons-nous déterminer l'âge des fibrilles par leur plus ou moins grande affinité vis-à-vis des colorants spécifiques de l'élastine.

Le réseau élastique dans les cultures sur plasma a donc une forme bien particulière et mérite, plus exactement, le nom de *reticulum*. On remarquera cette différence entre le réseau élastique des cultures sur sérum et le *reticulum* élastique des cultures sur plasma sur les deux clichés. : (Pl. III. Fig. 6 et Pl. IV. Fig. 7).

Notons que, sous l'une ou l'autre de ces formes, la condensation d'élastine est placée sur un plan légèrement supérieur à celui des cellules. Cela ne nous surprend pas puisque nous savons que les fibrilles intra-cellulaires sont épicyellulaires, et qu'elles s'évadent dans la substance fondamentale par le plan supérieur des cellules.

Comment expliquer la disposition particulière du *reticulum* dans les cultures de tissu élastique sur plasma? C'est qu'il existe, selon ce procédé de culture, un substratum selon lequel s'orientent les élastoblastes et secondairement les fibrilles néoformées. Ce substratum est représenté par le réseau de fibrine, qui résulte de la coagulation du plasma par le jus d'embryons. Pour s'en rendre parfaitement compte, il suffit de cultiver des fragments de tissu élastique sur plasma de lapin. Ce plasma, coagulé par le suc embryonnaire a l'avantage de déterminer la formation d'un réseau visible au microscope. Dans ce cas, on aperçoit les cellules suivre les parois du *reticulum* de

fibrine, et c'est dans leurs prolongements que l'on trouve les fibrilles élastiques, lorsque celles-ci se sont développées. On peut nous objecter que parfois il existe une orientation des cellules et des fibrilles. Mais, P. WEISS qui, en 1929, a étudié l'influence du réseau de fibrine dans les cultures, a bien montré, que la direction de croissance coïncide avec les lignes de tension et que l'intensité de croissance est proportionnelle à l'intensité de tension. Ce fait explique bien l'orientation partielle que nous avons remarquée dans certaines cultures sur plasma.

Nature du réseau. — Nous ne ferons pas de diagnostic positif du réseau, puisque celui-ci a déjà été établi, lorsque nous avons discuté de la nature des fibrilles. Le diagnostic est exactement le même.

L'exactitude du diagnostic est encore démontrée par les caractères morphologiques précédemment exposés. (Leurs anastomoses, leurs divisions, leur absence de toute striation), et par les caractères physiques des fibrilles néo-formées. C'est donc un élément de plus, au faisceau de preuves, que nous avons apporté pour démontrer la nature élastique des fibrilles observées. Les caractères physiques des fibres situées dans la zone de croissance sont faciles à établir.

L'élasticité étant la propriété fondamentale de ces fibrilles nous nous sommes attachés à la démontrer. Dans ce but, nous nous sommes servis de l'appareil à micro-dissection de CHAMBERS. Après avoir fixé l'extrémité d'une aiguille du micro-manipulateur sur une fibrille, nous avons bloqué fortement celle-ci contre la lamelle de verre qui avait servi à la culture. Avec l'autre aiguille nous avons fait la même opération pour l'autre extrémité de la fibrille, qui, de cette façon, se trouvait prise entre les deux aiguilles. Opérant ensuite un déplacement longitudinal des deux aiguilles, l'une par rapport à l'autre, nous avons constaté qu'il était possible d'étirer la fibrille sur une certaine distance. Si à ce moment on lâche l'une des extrémités de la fibre, celle-ci reprend aussitôt sa forme et ses

dimensions primitives. Or ceci est la définition même de l'élasticité, propriété qui appartient donc en propre aux éléments néo-formés.

Bien entendu les fibres sont très fragiles, et, se brisent, pour peu que la traction dépasse leur seuil de résistance. En effet, la fibre étant toujours maintenue par ses extrémités, déplaçons les aiguilles de l'appareil de CHAMBERS, de façon à obtenir une rupture de la fibre. Cette rupture survient en un point variable de sa longueur. La forme des deux fragments ainsi obtenus, est seule intéressante. Les fragments ne restent pas rectilignes. Ils s'enroulent et se présentent sous la forme de vrilles de vigne, démontrant ainsi à quel point l'élasticité est une des propriétés les plus nettes des fibres observées.

Un autre caractère physique est leur birefringence. L'examen direct en lumière polarisée ne nous a donné absolument aucun résultat. Mais par l'emploi d'un compensateur, formé d'une plaque de gypse donnant le rouge de premier ordre, nous sommes arrivés, dans certains cas, à un résultat positif. Ce phénomène peut s'expliquer par la faible birefringence des fibrés. Pour démontrer, que ces corps sont bien optiquement anisotropes, il sera donc toujours nécessaire d'intercaler un compensateur.

Si on place sur la platine du microscope polarisateur une culture d'un fragment d'aorte, offrant, dans sa zone de croissance, de nombreuses fibrilles élastiques, nous ne constaterons pas encore leur birefringence. Mais adaptons à ce dispositif le micro-manipulateur dont nous nous sommes servis pour l'expérience précédente, et par la même manœuvre tendons la fibre en observation. L'anisotropie se révèle alors et devient de plus en plus nette à mesure que le degré de tension augmente. Relâchons la fibre, l'anisotropie disparaît progressivement. Ainsi, dans les cultures d'aorte, les fibrilles de nouvelle formation ne sont optiquement anisotropes qu'à l'état de tension. Et, ceci, vient confirmer encore notre diagnostic si on se rappelle que ce caractère a été démontré pour les fibres élastiques « *in vivo* ».

S'il se pose une question de diagnostic différentiel, nous rappelons qu'au sujet des fibrilles nous avons éliminé, grâce à la coloration par le Weigert et l'orcéine, les fibres collagènes et les fibres reticulées. A propos du réseau fibrillaire il nous faut aussi éliminer :

1° Un réseau de fibrine; 2° Un réseau élastique qui ne serait pas de nouvelle formation, mais qui proviendrait de l'explant, par étalement de celui-ci. Or, avec la technique de coloration que nous avons employée (surcoloration et décoloration très prolongées), le réseau de fibrine des cultures sur plasma ne s'est jamais coloré par le Weigert, d'autre part, un grand nombre de cultures faites sur sérum ont donné lieu à la genèse d'un réseau élastique tout aussi net que dans les cultures sur plasma. On ne saurait donc confondre le réseau de fibrine et le réseau néo-formé.

L'élimination du réseau élastique provenant de l'étalement de l'explant est tout aussi facile. La méthode de SCHIFF ou de FEULGEN nous permettra de différencier nettement les fibres qui proviennent de l'explant, de celles qui ont pris naissance dans la pousse cellulaire. On connaît cette méthode dont la technique et l'application aux tissus ont été étudiées par notre Maître Monsieur le Professeur Jean VERNE. Elle met en évidence certaines substances donnant la réaction de corps aldéhydiques et constituées aux dépens de lipides non saturés. Positive après hydrolyse au niveau du noyau et plus spécialement de la nucléine, cette réaction est encore positive directement au niveau de quelques éléments tels que : certains tubes urinaires, la gaine de myéline, certaines cellules de l'épithélium pulmonaire.

En ce qui concerne le tissu élastique, M. le Professeur J. VERNE a montré que la réaction de FEULGEN était toujours négative pour le tissu élastique du derme et du poumon, et tantôt positive, tantôt négative, pour le tissu élastique des vaisseaux. Mais, fait caractéristique, un traitement préventif

par l'alcool qui, pour les autres tissus, fait disparaître la substance qui donne la réaction, est sans action sur l'élastine.

De plus, au cours des différents stades embryologiques, un tissu élastique ne devient positif à la réaction de FEULGEN qu'après avoir acquis un certain âge. C'est ainsi, qu'elle est négative pour les fibres élastiques d'aorte d'embryons de poulet ayant huit jours d'incubation. Elle devient positive pour les mêmes fragments d'embryons ayant seize jours d'incubation. En culture « in vitro » et en ce qui concerne les fibrilles néoformées, la réaction reste toujours négative, même si l'explant provient d'un embryon de poulet de seize jours et si la culture est faite en présence d'acide ou de corps gras.

Donc sur une culture d'un fragment d'organe d'un embryon de poulet de seize jours, seront seules colorées par la réaction de FEULGEN, les fibres élastiques de l'explant, les autres restent parfaitement incolores. (Pl. V. Fig. 10).

Pour conclure ce chapitre, nous dirons qu'après avoir assisté dans un premier temps à la genèse des fibrilles intracellulaires, dans un second temps à l'émigration de ces fibrilles dans la substance fondamentale, nous avons assisté dans un dernier temps à l'élaboration d'un réseau, dont la nature et le caractère de nouvelle formation ne peuvent être mis en doute. La division en périodes, adoptée par nous, est artificielle et fictive. Les différents stades de la genèse élastique peuvent chevaucher les uns sur les autres. Cette division n'a eu qu'un but, celui de mettre de la clarté dans notre exposé.

DOCUMENTS PHOTOGRAPHIQUES

Les clichés suivants ont été exécutés au Laboratoire de Photographie de l'Institut du Cancer par MM. MANGINI et GALLAS. Nous tenons à les remercier bien sincèrement de leur si amicale collaboration.

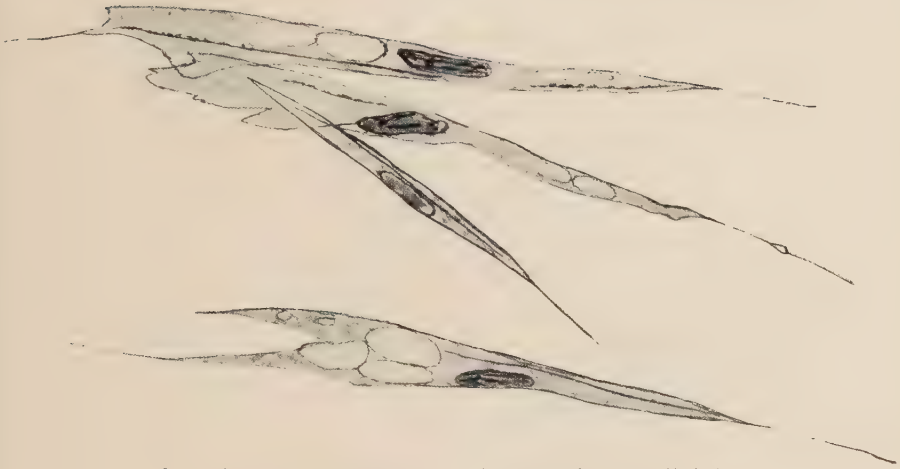


FIG. 1. — Condensation d'élastine intra-cellulaire
Culture d'un fragment d'aorte d'un embryon
de poulet ayant 8 jours d'incubation.

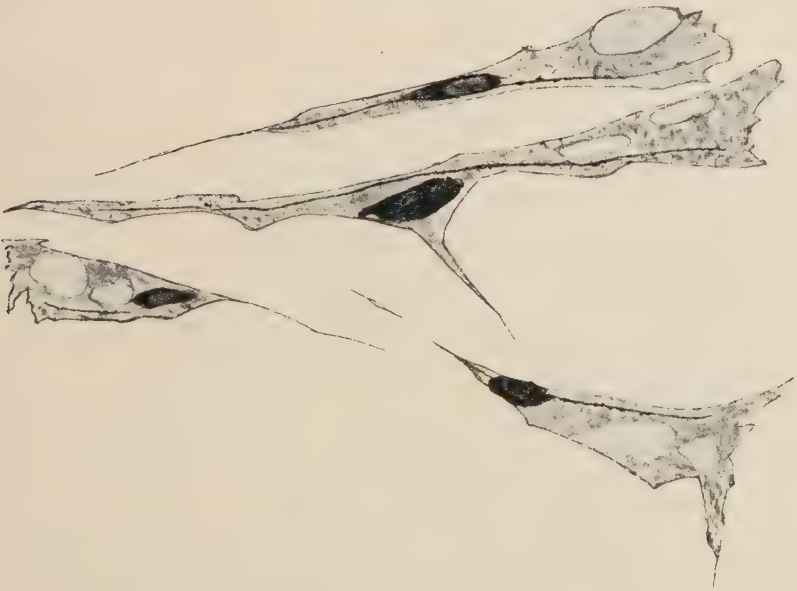


FIG. 2. — Condensation d'élastine intra-cellulaire.
Culture d'un fragment de peau d'un em-
bryon de poulet ayant 8 jours d'incuba-
tion.



FIG. 3. — Jeunes fibrilles élastiques, qui se trouvent encore pour la plupart à l'intérieur des cellules. Anastomoses de fibrilles provenant de cellules différentes.
a) fibrille émigrant dans la substance fondamentale.

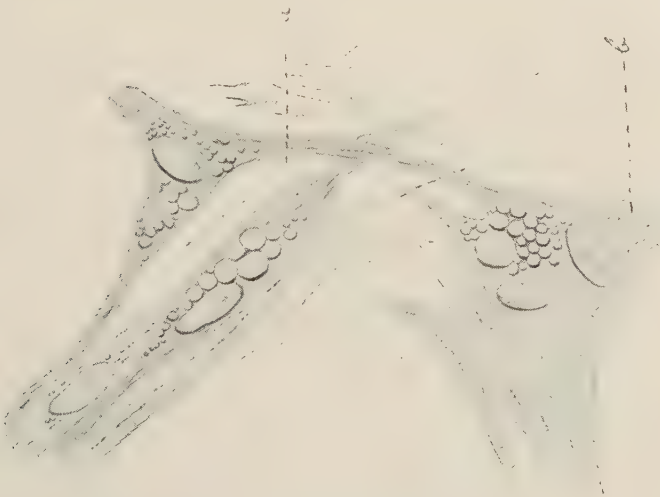


FIG. 4. — Ce cliché représente la même culture que le cliché précédent. Mais, ici, la culture est morte, d'où : apparition des noyaux des cellules, rétraction des prolongements protoplasmiques. Mais les fibrilles qui émigraient hors des cellules n'ont pas suivi ce mouvement (a). Les fibrilles en dégénérescence se présentent sous forme de chainettes de grains (b).

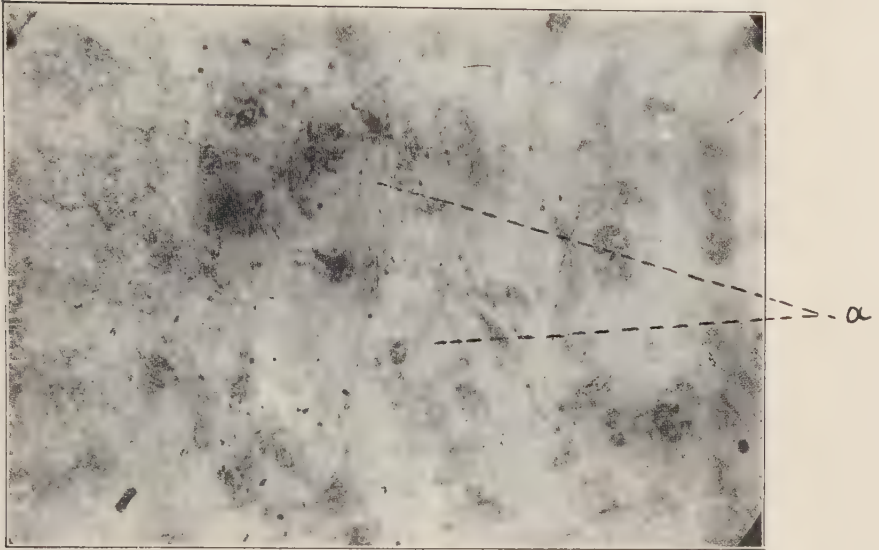


FIG. 5. — Jeune réseau élastique. (Fragment d'aorte cultivé pendant 4 jours).

a) Fibrilles élastiques peu colorées par le Weigert.

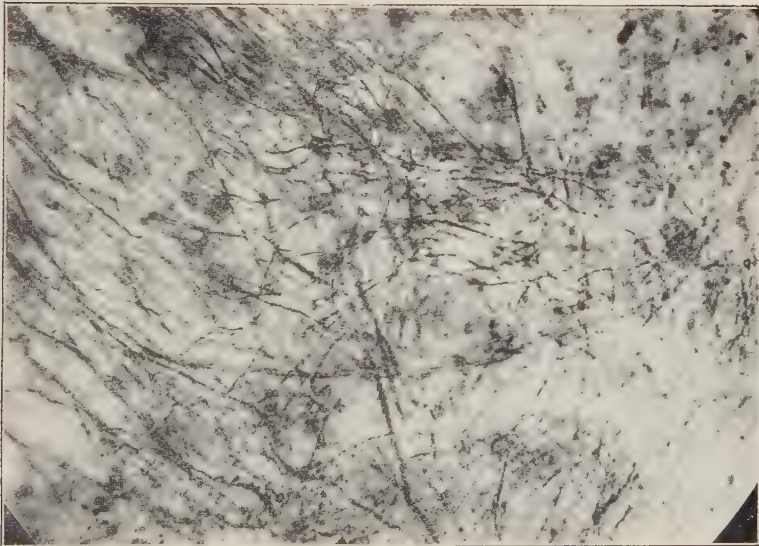


FIG. 6. — Réseau élastique. — Fragment d'aorte cultivé sur plasma pendant 30 jours.

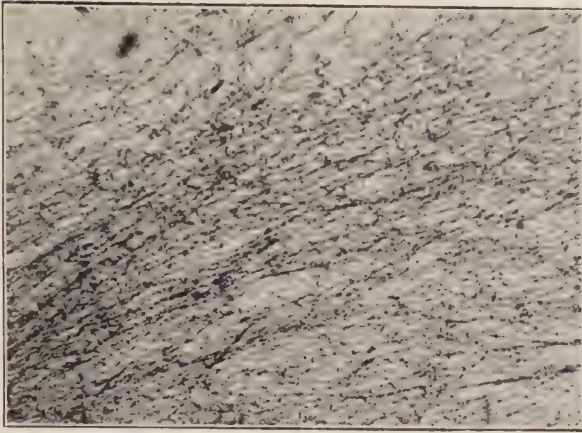


FIG. 7. — Réseau élastique. Fragment d'aorte cultivé sur sérum pendant 30 jours.

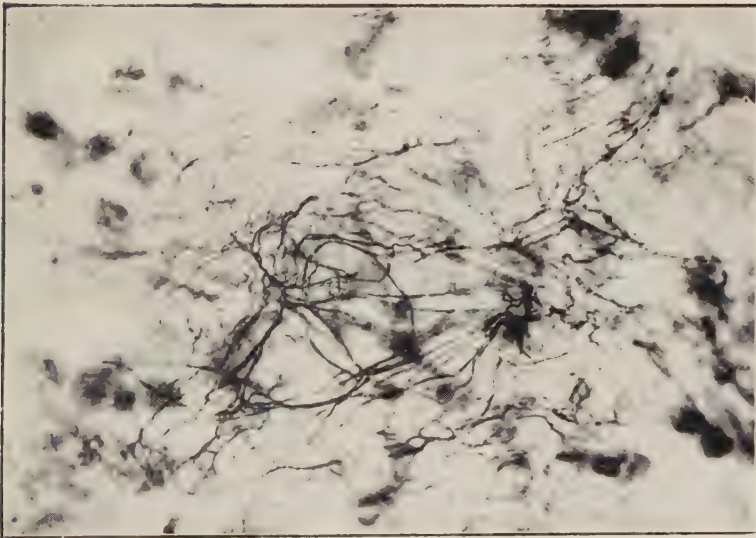


FIG. 8. — Formation de fibres élastiques par anastomose de plusieurs fibrilles. Aspect pénicillé des fibres en voie de formation. Fragment d'aorte cultivé pendant 15 jours.



FIG. 9. — Formation de très grosses fibres élastiques. Nous trouvons les mêmes caractères que sur le cliché précédent mais plus accentués. Fragment d'aorte cultivé pendant 27 jours.

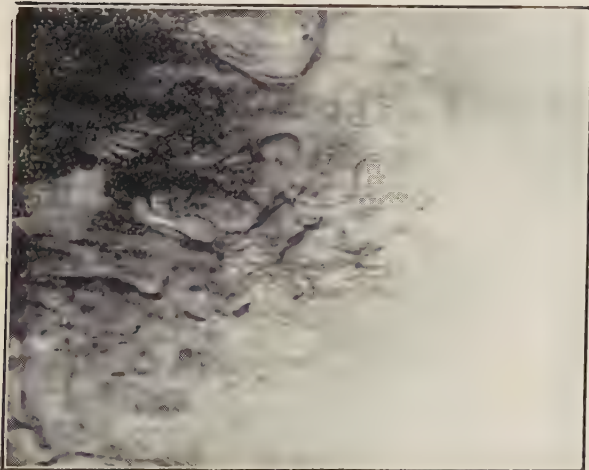


FIG. 10. — Réaction de Feulgen. Seules les fibres provenant de l'étalement de l'explant sont colorées. Les fibrilles de nouvelle formation sont négatives.



FIG. 11. — Culture d'un fragment de cœur embryonnaire non animé de battements.
a) quelques fibres élastiques.

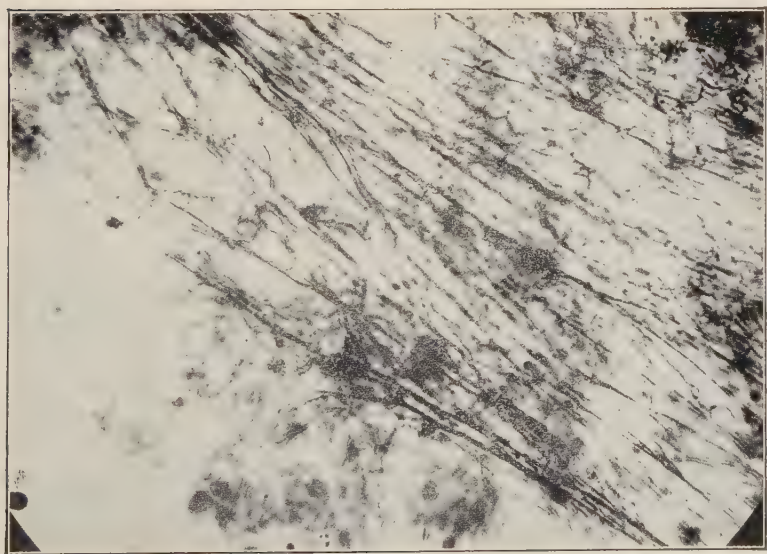


FIG. 12. — Culture d'un fragment de cœur embryonnaire animé de battements. Riche réseau élastique orienté autour de l'explant.

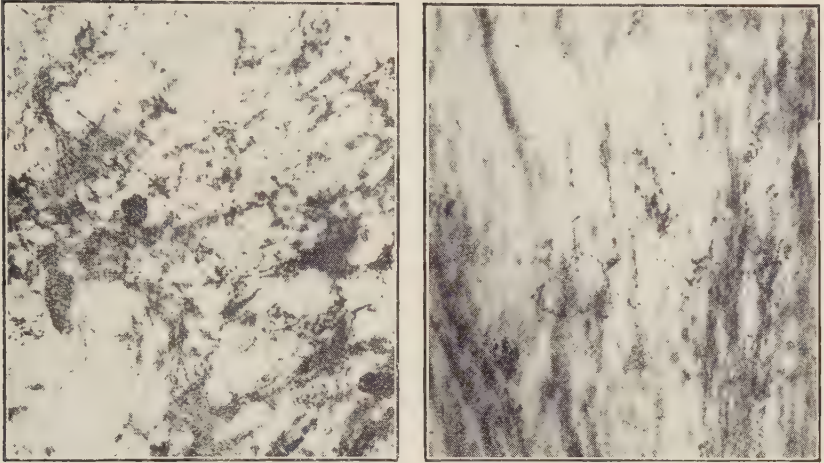


FIG. 13. — A droite : culture d'un fragment d'aorte, qui a subi des vibrations de forte intensité et de fréquence élevée. Les fibres nombreuses sont segmentées.

A gauche : culture d'un fragment d'aorte qui a subi des vibrations, d'intensité et de fréquence modérées. Les fibres sont très nombreuses et disposées sur plusieurs plans.

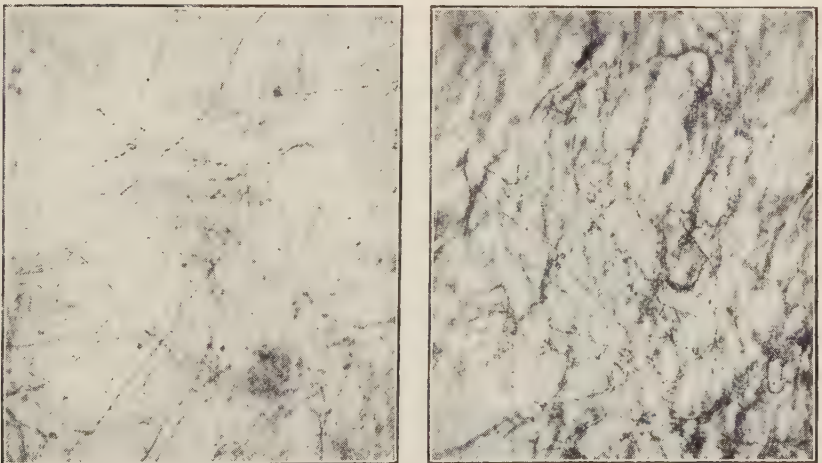


FIG. 14. — A droite : culture d'un fragment d'aorte sur plasma additionné de glycocolle. Riche réseau élastique. — A gauche : culture témoin sur milieu normal. Réseau élastique beaucoup moins développé.

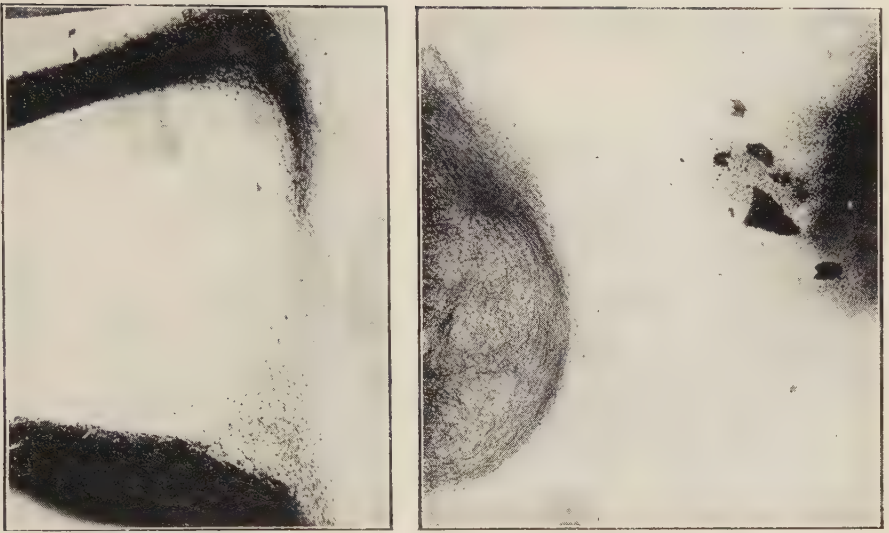


FIG. 15. — A droite : culture affrontée. Fragment d'aorte et fragment de sarcome de Jensen. La croissance fibrillaire est arrêtée devant l'explant cancéreux. La direction des fibres est perpendiculaire à la ligne unissant directement les 2 explants. — A gauche : culture affrontée. Fragment d'aorte et fragment de peau. Les fibrilles élastiques néoformées s'étendent d'un fragment à l'autre.

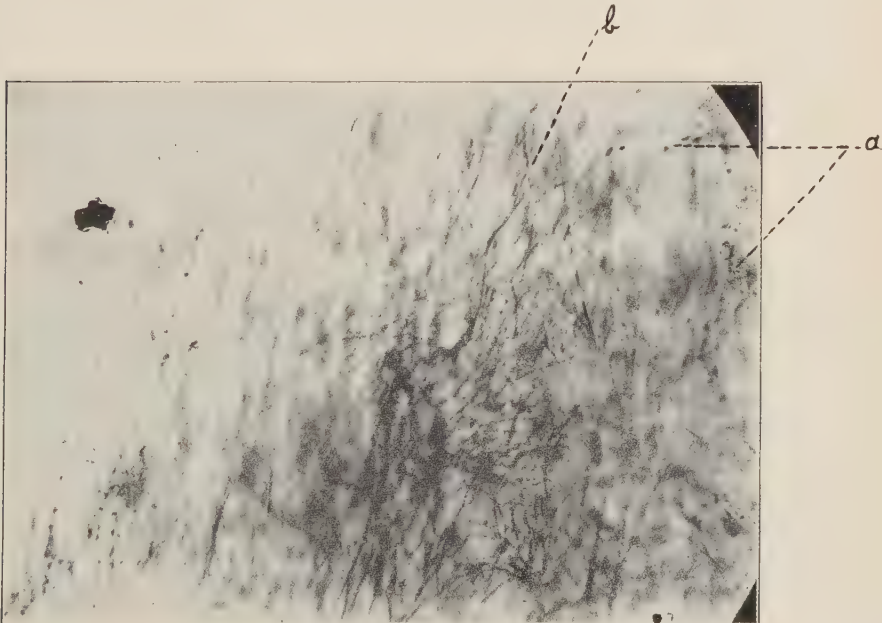


FIG. 16. — Dégénérescence des fibres élastiques. a) grains d'élastine. b) fibres segmentées.

CHAPITRE III

Influence du milieu

PREMIERE PARTIE

Influence de Corps Chimiques

Nous avons vu, dans le précédent chapitre, l'importance que revêtait le milieu, dans les cultures « in vitro » de tissu élastique. Nous ne reviendrons par sur les particularités morphologiques et sur la disposition des réseaux élastiques qui dépendent des constituants essentiels de la substance fondamentale. Mais nous étudierons de façon systématique ces constituants chimiques, physiques et biologiques, et, nous examinerons les conséquences de leur modification sur la genèse fibrillaire.

Cette première partie sera réservée à l'étude de l'action de certains corps chimiques. Notre technique habituelle a été seule utilisée. Cependant nous avons ajouté, dans certaines proportions, au milieu de culture la substance chimique soumise à l'expérimentation. Pour les cultures sur sérum, cette addition ne présentait aucune difficulté, le mélange s'effectuant très facilement. Pour les cultures sur plasma, la substance était placée sur la lame ou dans le flacon de CARREL avant le jus d'embryons, c'est-à-dire avant la coagulation du plasma. De cette façon le milieu était rigoureusement homogène. Enfin, nous n'avons employé que des pipettes graduées pour obtenir des concentrations justes et, pour chaque corps, de nombreuses cultures-témoins étaient faites dans les mêmes conditions par addition, au milieu, d'une même quantité de sérum physiologique.

La richesse de l'élastine en acides aminés ayant été démon-

trée par STRAUSS et COLLIER, il nous a paru intéressant de rechercher leur action sur la genèse du tissu élastique.

Si nous considérons les résultats obtenus, il est permis de diviser les acides aminés en trois groupes. Certains ont une action nettement favorable sur la genèse élastique et la croissance générale, d'autres sont sans action. d'autres, enfin, ont une action inhibitrice.

1° *Acides aminés favorisant la genèse élastique.* — De tous les acides aminés dont nous avons fait l'essai, seuls : le glycocolle, le tryptophane, l'acide phényl- β -alanine, l'acide glutaminique, la proline, la creatinine ont déterminé une augmentation du nombre des fibrilles néo-formées. Dans la série grasse des monoamino-monoacides, le glycocolle s'est révélé comme étant un des plus actifs. L'addition au milieu de cet acide amino-acétique entraîne une prolifération considérable de fibrilles. L'évolution de ces dernières se fait très rapidement et nous rencontrons bientôt dans les préparations de très grosses fibres et un réseau très fourni. Le glycocolle ne fait ni avancer, ni reculer le moment d'apparition des premiers éléments élastiques ; par contre, il retarde beaucoup le moment où les fibres se fragmentent et dégénèrent.

A côté de cette influence spécifique du glycocolle sur les fibres élastiques, il faut noter une action de ce même acide aminé sur la croissance générale. Ainsi, après 48 heures d'étuve, le coefficient mitotique moyen, qui, pour les préparations témoins, était de 8, atteignait 12 pour les cultures faites en présence de glycocolle. Ceci explique, en partie, l'hypergenèse élastique, mais nous disons bien, en partie seulement. Comparons, en effet, le rapport qui existe entre le nombre de fibrilles et le nombre de cellules en voie de mitoses dans une portion déterminée de la culture. Ce rapport est beaucoup plus grand lorsque le milieu contient du glycocolle. Il nous faut donc bien admettre, à côté d'une action générale sur la pousse, une action particulière sur les éléments élastiques. Nous pourrions faire, exactement, les mêmes remarques et aboutir aux mêmes con-

clusions en ce qui concerne trois autres acides aminés, mono amino-mono acides : le tryptophane, la proline, l'acide phényl- β -alanine, un acide aminé mono amino-diacide : l'acide glutaminique et la créatinine, qu'on ne peut classer dans aucun groupe. Là encore, nous constatons la même hypergenèse élastique, le même agrandissement de la surface de pousse. Le coefficient mitosique moyen (1) était de dix pour le tryptophane et l'acide phényl β -alanine, onze pour la proline et l'acide glutaminique, neuf pour la créatinine (le coefficient mitosique moyen des préparations témoins restant toujours à huit).

2° *Acides aminés sans action sur la genèse élastique.* — Ce groupe est constitué par les acides aminés sans action tant sur la genèse élastique que sur la croissance générale. Il comprend cinq mono amino-mono acides : la leucine, la serine, la cystéine, la valine, et l'alanine. Les cultures, additionnées d'une de ces substances, présentaient le même nombre de fibrilles élastiques, la pousse n'était pas modifiée et leur coefficient mitosique moyen était aux environs de huit.

Ce groupe contient, encore, l'arginine, et le glutathion. Ces résultats paraissent surprenants pour cette dernière substance, puisque le glutathion comprend deux acides aminés qui ont une action favorisante : le glycocolle et l'acide glutaminique. Mais il est encore formé de cystine qui, comme nous allons le voir, a une action inhibitrice.

3° *Acides aminés ayant une action inhibitrice.* — Les cultures faites en présence de cystine, qui est un acide aminé mono amino-mono acide, se caractérisent par un retard général de la croissance : quelques éléments cellulaires émigrent, quelques mitoses se font. Mais la pousse est entravée : le coefficient mitosique ne dépasse pas le chiffre de quatre.

(1) Sous ce nom, nous entendons le nombre de mitoses au millimètre carré dans la zone d'invasion.

Parallèlement, le nombre des fibrilles de nouvelle formation est beaucoup moindre que dans les préparations témoins. Celles qui se sont formées ressemblent à petites, chétives et, à peine un réseau s'est-il constitué, que les fibrilles se fractionnent, se segmentent, se mettent en grains, toutes formes de dégénérescence des éléments élastiques.

Outre la cystine, ce troisième groupe comprend un autre mono-amino-mono-acide : l'acide phényl- α -alanine et deux diamino-mono-acides : la lysine et l'histidine. Leurs coefficients mitotiques moyens sont respectivement de 3-2 et 6. Notons que l'acide phényl- α -alanine ($C^6H^5-CH^2-CH(NH^2)COOH$) et l'acide phényl- β -alanine ($C^6H^5-CH(NH^2)-CH^2-COOH$) malgré leur formule presque semblable et leur composition très voisine, ont une action diamétralement opposée.

De ce que nous venons d'exposer, il ressort que des modifications chimiques du milieu, modifications apportées par les acides aminés, interviennent sur la croissance et la genèse élastique. Une remarque, cependant, s'impose : les acides aminés qui avaient une action favorable à une certaine dose, perdent ce pouvoir et deviennent toxiques pour les cellules, dès que le taux de la concentration dépasse un certain chiffre. Tous les résultats ci-dessus ont été obtenus avec des concentrations en acides aminés de un pour trois mille. Les acides aminés du premier groupe à la dose de deux pour trois mille n'ont pas agi sur la croissance et à une dose plus forte ils pouvaient être assimilés par leur action aux acides aminés du troisième groupe. Bien entendu, la toxicité de ces derniers augmentait en même temps que leur concentration.

Les clichés placés au milieu de cet opuscule illustrent ces conclusions et montrent mieux que nos explications la richesse du réseau élastique avec certains acides aminés (Pl. VII, Fig. 14).

Notons qu'en 1926, CARREL et EBELING avaient étudié l'action de divers acides aminés sur des cultures pures de fibroblastes. Ces auteurs ont mis en relief l'absence de toxicité à des doses convenables, des acides aminés pour les cellules conjonctives.

DEUXIEME PARTIE

Influence de Causes Physiques ou Mécaniques

La différenciation des fibrilles élastiques ne dépend pas seulement de facteurs chimiques, mais aussi de facteurs mécaniques et physiques. Ces derniers interviennent plus efficacement encore. Cela était facile à prévoir, si on se rappelle ce que nous avons dit précédemment, sur l'influence du réseau de fibrine. La croissance étant proportionnelle aux forces de traction de ce réseau, nous avons pensé que leur modification entraînerait des variations dans la pousse du tissu élastique.

Or, il existe un facteur mécanique qui varie naturellement dans une culture dont l'explant est un fragment de cœur d'un embryon de poulet. Ce facteur est constitué par les battements. Ce rôle des contractions cardiaques sur la genèse des fibrilles élastiques a d'ailleurs été l'objet d'une controverse. Deux auteurs l'ont particulièrement étudié : BLOOM-WILLIAM en 1929 ; PORTA en 1930. BLOOM-WILLIAM a mis en évidence la genèse des fibrilles élastiques dans des cultures d'aorte et de cœur embryonnaires. « Les battements cardiaques, écrit-il, ont une influence considérable. Les fibrilles élastiques sont plus épaisses contre les lignes qui sont attirées par le muscle cardiaque contractile... Il semble, conclut-il, que si la force contractile n'est pas absolument nécessaire pour le développement des fibres, elles atteignent leur plus grand développement sous cette influence. » Cet auteur n'a observé que dans un petit

nombre de cas, la formation d'un nombre restreint de fibres élastiques, dans le nouveau tissu provenant d'un cœur qui ne battait pas.

PORTA contredit ces données. Il cultive aussi des ébauches de cœur d'embryons de poulet ayant sept jours d'incubation. Pour cet auteur, la différenciation des fibres est indépendante de la contraction cardiaque. Pour poser ces conclusions, il se base sur la formation de fibrilles élastiques dans des ébauches de cœur et sur la formation de fibres sous-épidermiques dans des cultures de peau.

Pour résoudre ce problème, nous avons mis en culture un grand nombre de fragments de cœur dont les uns étaient animés de battements et dont les autres ne battaient pas. Tous étaient placés dans une étuve réglée à 25°. De plus, les fragments de cœur qui battaient, étaient examinés chaque jour pendant quelques minutes, ce qui avait pour but, d'une part, de contrôler les battements, d'autre part, de réveiller les contractions par l'excitation lumineuse due à la lampe du microscope et à l'ensemble des condensateurs.

Dans ces conditions, nous avons pu constater que, si les battements cardiaques n'avaient aucune importance sur la date d'apparition des fibrilles élastiques, il n'en était pas de même en ce qui concerne l'abondance, la richesse et le développement du réseau. Ils provoquent une activité considérable des élastoblastes, activité entraînant la formation de très nombreuses fibrilles et d'un réseau bien plus riche que dans les cultures de fragments de cœurs qui ne battaient pas. Le nombre des fibres est si grand que par endroit existe un véritable feutrage. ((Pl. VI, fig. 11 et 12.)

Bien entendu, s'il est indiscutable que les contractions cardiaques favorisent la genèse élastique, il n'en est pas moins vrai qu'elles ne sont pas indispensables. Un fragment de cœur, quel qu'il soit, donne toujours naissance à des fibrilles élastiques et secondairement à un réseau. D'ailleurs, dans les premiers jours de culture, il existe peu de différence, quant à la différenciation des éléments élastiques, entre les cultu-

res de fragments de cœurs qui battaient et ceux qui ne battaient pas. Mais plus le cœur a battu longtemps, plus la différence s'accuse. Elle est déjà nette dès le quatrième ou cinquième jour. Elle devient évidente et démonstrative pour les cultures de quinze ou vingt jours. En d'autres termes, l'hypergenèse est fonction du temps de battement.

Les contractions cardiaques ont encore une autre conséquence. Elles jouent un grand rôle sur l'orientation du réseau élastique. Dans une culture de fragment de cœur contractile, les fibrilles se disposent en trois zones. Une première est au contact de l'explant. Elle est composée de petites fibrilles, courtes, spiralées, en rapport avec les fibrilles du fragment. Ces fibrilles néo-formées n'ont pas d'orientation nette. En se rapprochant de la périphérie de la préparation, on rencontre une deuxième zone plus épaisse où les fibrilles longues et rectilignes forment presque une lame entourant la partie du fragment qui battait. A ce niveau, elles présentent de nombreuses anastomoses disposées dans une même direction. (Pl. VI, fig. 12.) Enfin, sur les bords de la pousse, se trouve la troisième zone où les fibrilles reprennent l'aspect de celles de la première zone, c'est-à-dire qu'elles sont petites, irrégulières, sans orientation spéciale, et dont le nombre décroît à mesure que l'on s'éloigne de l'explant.

Il est certain que les fragments de cœurs qui présentent des battements sont ceux qui appartiennent aux faisceaux de His ou aux nœuds de Tawara, régions très riches en tissu élastique. On peut nous objecter que cette richesse entraîne naturellement, la production d'un plus grand nombre d'élastoblastes, et, par suite, de fibrilles. Bien que l'on puisse retourner l'argument et prétendre que la richesse en éléments élastiques de ces régions, est due au fait qu'elles sont des centres de battements, nous nous sommes livrés à une contre-épreuve. Dans une oreillette, nous avons prélevé deux fragments identiques ; l'un, dont nous avons provoqué chaque jour les battements par une excitation lumineuse ; l'autre, que nous avons gardé à l'obscurité sans le faire battre. Nous avons constaté

la genèse, dans le premier cas, d'un très riche réseau élastique ; dans le second, de quelques fibres seulement. L'hypergenèse élastique est donc bien due aux battements cardiaques.

Ce fait étant démontré, il nous a paru intéressant de savoir, si des chocs répétés sur une culture de tissu élastique, auraient une action analogue. Pour étudier ce nouveau facteur mécanique, nous avons imaginé un dispositif susceptible de produire des chocs à intervalles réguliers. La réalisation en était faite par un petit marteau entraîné par un électro-aimant. La fréquence et l'intensité des chocs étaient réglées par l'écartement plus ou moins grand de ces deux pièces. Les fragments de tissu étaient cultivés sur du mica au lieu de l'être sur lamelle de verre et la préparation était suspendue par deux ressorts très doux. Ceci donnait à l'ensemble une grande souplesse. Au cylindre enregistreur, le résultat s'inscrivait sous la forme d'une sinusoïde parfaitement régulière.

Les chocs ont une action différente sur la genèse élastique selon leur fréquence et leur intensité. Ils ont sensiblement la même influence que les battements cardiaques, lorsqu'ils sont appliqués avec une intensité modérée et une fréquence de quinze chocs à la seconde. Nous avons noté une même augmentation du nombre des fibrilles néo-formées, par comparaison avec les préparations témoins, une même orientation autour du point d'application des chocs.

Résultats analogues et encore plus nets avec des vibrations dont la période était de soixante-huit à la seconde et dont l'amplitude était faible.

L'hypergenèse élastique était vraiment considérable. Toute la culture prenait la forme d'un véritable feutrage élastique. Différents réseaux s'échelonnaient sur différents plans. Par aucun autre artifice, nous n'avons obtenu la genèse d'un aussi grand nombre de fibrilles. Les signes de dégénérescence ne survenaient dans ces cultures qu'après deux ou trois mois. Ils n'apparaissaient que très lentement et même, après ce laps de temps, il était possible de trouver des fibres parfaitement indemnes.

Mais cette influence si favorable ne se manifeste plus, si l'intensité et la fréquence des chocs et des vibrations sont augmentées. Des chocs violents appliqués sur les cultures à la fréquence de cinquante-huit à la seconde n'empêchent pas la formation de fibrilles élastiques. Mais ces dernières sont petites, irrégulières, souvent spiralées, séparées les unes des autres, comme si elles avaient été déchirées. On ne trouve plus ces longues fibrilles rectilignes, si fréquentes dans le cas précédent.

Ces caractères sont plus marqués encore si nous appliquons sur les cultures de fortes vibrations à la fréquence de quatre-vingt-seize à la seconde. Les éléments élastiques ne se présentent plus sous forme de fibres, mais sous forme de fragments de fibres et sous forme de grains.

En raison de leurs conséquences physiologiques et même pathologiques, nous avons voulu mettre en évidence, dans ce chapitre, l'importance que pouvaient acquérir certains facteurs mécaniques, comme les battements cardiaques, les chocs, les vibrations, importance qui s'est traduite par des modifications très profondes de la genèse élastique.

TROISIEME PARTIE

Influence de Causes Biologiques

La méthode de cultures de tissus permet, comme nous l'avons vu, de suivre qualitativement et quantitativement la croissance des éléments cellulaires et fibrillaires, dans des milieux de composition chimique et de conditions physiques différentes. L'avantage analytique de cette méthode se retrouve dans les cultures affrontées, c'est-à-dire lorsque deux fragments provenant du même organe ou d'organes différents sont mis en culture sur la même lamelle ou dans le même flacon de Carrel. Nous verrons, également, dans ce chapitre, l'influence que peuvent avoir des colonies microbiennes sur l'aréole de pousse et la genèse fibrillaire.

1° *Cultures affrontées.* — Sur une lamelle de verre, mettons en culture un fragment d'aorte et un fragment de peau d'un embryon de poulet. Les deux fragments sont séparés par une distance d'un millimètre environ.

Bientôt des cellules émigrent. D'autres se constituent par division mitotique. Une aréole de pousse s'élargit autour des deux explants, analogue à celle qui se formerait si les explants étaient cultivés sur des lamelles différentes. On peut suivre la croissance des cellules, non seulement lorsqu'elle croissent encore isolément, mais encore jusqu'au moment où les surfaces de croissance arrivent au contact l'une de l'autre et enfin jusqu'à la fusion complète des deux cultures. La

pousse est absolument normale tant au point de vue genèse cellulaire que genèse fibrillaire. La quantité des fibrilles néo-formées est la même. Bien entendu, le nombre de ces fibrilles néo-formées est plus grand du côté du fragment d'aorte que du côté du fragment de peau, en raison de la pauvreté de ce tissu en élastoblastes.

Seule, l'orientation des fibrilles de nouvelle formation diffère dans la zone comprise entre les deux fragments. Les fibrilles ne se disposent plus en rangées concentriques autour du fragment, comme dans les cultures simples.

Elles s'allongent entre les deux explants. Ceux-ci sont donc réunis par un véritable pont fibrillaire. Ce pont peut se diviser en rangées de fibrilles, toutes rectilignes, unissant en ligne droite les deux fragments. Dans le reste de la préparation, la disposition des fibrilles est normale. (Pl. VIII, fig. 15.)

Nous avons remarqué ce fait dans de très nombreux cas et quelle que soit la nature du deuxième fragment. C'est dire que nous l'avons observé aussi bien avec le tissu hépatique, le tissu tendineux ou le tissu cardiaque, qu'avec le tissu cutané.

Comment expliquer cette orientation particulière ? L'explication en est facile si on se rappelle les deux lois de P. WEISS relatives à l'influence du réseau de fibrine. Il n'est pas douteux, qu'un réseau de fibrine s'établit entre les deux fragments mis en culture et qu'il s'établit de véritables lignes de force entre les fragments. La pousse cellulaire suivra, naturellement, cette disposition. Les élastoblastes se placeront contre ces lignes, et les fibres néo-formées, prenant toujours appui sur le reticulum fibrineux, garderont cette même disposition.

Cette explication ne peut évidemment pas convenir aux cultures sur sérum, et pourtant nous avons noté la même distribution fibrillaire. Mais elle ne se manifeste que lorsque les deux explants sont mis en culture très près l'un de l'autre et lorsque les deux surfaces de pousse sont entrées en contact. Or, nous avons vu qu'un des caractères des fibrilles cultivées sur sérum est de chercher appui sur les cellules ou les unes

sur les autres. Dans notre cas particulier, les fibrilles élastiques prennent appui, non plus sur un substratum fibrineux, mais sur un substratum cellulaire. Le processus est ensuite le même que pour les cultures sur plasma.

Revenons à ces dernières cultures. L'influence du réseau de fibrine peut encore être démontrée par une autre expérience. Mettons en culture un fragment d'aorte sur plasma coagulé par addition de jus d'embryons. Mais, avant que la coagulation ne soit tout à fait complète, ajoutons un fragment d'un autre organe. Il existera alors, autour du fragment d'aorte, des lignes de fibrine concentriques, et les fibrilles néo-formées seront concentrées par rapport à l'explant. Au surplus, la disposition particulière des fibrilles, signalée ci-dessus, devient moins évidente et même disparaît complètement si l'écartement des deux explants augmente. Dans ce dernier cas, le deuxième fragment suit sa propre évolution et ne réagit en rien sur la genèse cellulaire et fibrillaire du premier fragment. Tout au plus, voit-on apparaître les signes de dégénérescence plus précocement que normalement.

En résumé, deux fragments placés dans le milieu de culture loin l'un de l'autre ne réagissent pas l'un sur l'autre ; au contraire, deux fragments placés très près entraînent la croissance de longues fibrilles unissant les deux explants.

Il en est tout autrement quand le deuxième explant est un fragment de tissu cancéreux. Comme matériel, nous avons utilisé soit des fragments de carcinome de MURRAY, soit des fragments de sarcome de JENSEN, soit encore des fragments de lymphocytome. Avec les uns comme avec les autres, nous avons abouti aux mêmes conclusions. La technique de culture était absolument identique à celle qui nous avait servi à l'étude de l'influence des autres tissus.

Dans les premières heures de culture, tout se passe normalement. On remarque seulement une croissance plus active des cellules provenant du fragment d'aorte que celles du tissu cancéreux. Mais bientôt, la surface de pousse, qui dessinait une aréole parfaitement régulière autour de l'explant

aortique, semble s'allonger et s'étendre vers l'explant tumoral. C'est que la croissance de ce côté est plus rapide que de l'autre. Il n'est pas douteux que les produits de désintégration, secrétés si abondamment par les cellules malignes, favorisent la genèse cellulaire et fibrillaire. Ces produits de déchet auxquels les auteurs ont donné des appellations différentes : *neurohormones* de CASPARRI, *tréphones* de CARREL, les « *Wundhormones* de HABERLANDT », doivent être considérés, surtout depuis les travaux de A. FISCHER, comme des produits de croissance. Il existe donc, avant que les deux cultures entrent en contact, une augmentation du nombre de fibrilles. Cette augmentation est limitée à la portion de la pousse qui fait face à l'explant cancéreux.

Les cellules tumorales ne tardent pas à entrer en contact avec les cellules saines et les nouvelles fibrilles élastiques. Aussitôt, nous assistons au phénomène suivant : les cellules néoplasiques prolifèrent activement, tandis que les cellules normales périssent et que les fibrilles se fragmentent et dégénèrent. La croissance fibrillaire est nettement inhibée. De part et d'autre de cette zone d'inhibition, la croissance se fait normalement. Elle est même accrue en raison de l'action favorisante des substances de désintégration. Il en résulte la constitution d'un faisceau de fibrilles élastiques tangent aux deux aréoles de pousse, c'est-à-dire perpendiculaire à la ligne unissant directement les deux explants. (Pl. VIII, fig. 13.) Dans les cultures plus âgées, la destruction des fibrilles et des cellules, se poursuivant au niveau des colonies de cellules tumorales, le faisceau élastique prend la forme d'un croissant dont la concavité regarde l'explant cancéreux. On ne saurait rapprocher ce phénomène de l'hypergenèse élastique signalée par certains auteurs, notamment par ARGAUD et DUCOING, dans certaines tumeurs malignes.

2° *Influence de cultures microbiennes.* — Nous retrouvons cette même influence inhibitrice dans les cultures d'aorte faites en présence d'infections microbiennes. Les phénomènes

inhibitifs, tout à fait comparables à ceux produits par la présence d'un tissu cancéreux, sont très variables suivant la nature, l'intensité et le lieu d'infection. Nous trouvons encore un croissant de fibrilles élastiques incurvé autour de la colonie microbienne. L'inhibition peut aller depuis la simple dégénérescence fibrillaire jusqu'à la destruction complète de toute la culture et la lyse de tout le plasma. On conçoit qu'à ce point de vue la distance séparant l'explant aortique de l'infection a une importance considérable.

Action inhibitrice des microbes sur la genèse fibrillaire, action inhibitrice encore du tissu cancéreux, telles sont les deux grandes remarques qu'il convenait de faire à propos de ce chapitre.

On peut donc apprécier, par cette méthode de culture « in vitro », dans quelle large mesure la manifestation biologique nouvelle qu'est l'explant, dépend du milieu environnant, et déterminer les propriétés tout à fait indépendantes des variations du milieu.

CHAPITRE IV

Evolution des Fibres Elastiques

“ in vitro ”

PREMIERE PARTIE

Fixation de Calcium

De très nombreux travaux ont été faits sur la fixation du calcium par les fibres élastiques « in vivo ». Nous avons pensé qu'il serait important de savoir si « in vitro » le calcium était fixé, et, dans ce cas, de quelle manière et dans quelles conditions cette fixation se faisait. Nous avons donc cherché à mettre en évidence, dans les cultures de tissu élastique, non seulement le calcium fixé, mais encore le calcium total. Aucune méthode de coloration ne nous a paru suffisante pour déceler le calcium encore à l'état soluble dans les tissus. Nous avons opté pour la méthode de micro-incinération décrite par POLICARD et ses élèves. La micro-incinération était effectuée, soit après une fixation à l'alcool, soit sans aucune fixation. Les résultats obtenus dans les deux cas ont été identiques.

Evidemment, les cendres ainsi obtenues ne contiennent pas uniquement du calcium. POLICARD, NOEL, RAVAUULT ont révélé la présence, dans ces cendres, de magnésium et de silice. Pratiquement, on peut tenir pour négligeables ces dernières substances, en raison de leur très faible quantité. De plus, l'addition avec une micro-pipette d'une goutte d'acide chlorhydrique au dixième et d'une goutte d'acide sulfurique au dixième également, déterminait la formation de fines aiguilles de gypse. Les images obtenues par cette méthode étaient suffisamment nettes pour nous fixer sur la présence et le siège du calcium.

Dans les cultures, faites sur un milieu normal, la quantité du calcium est faible, avec prédominance au niveau du fragment mis en culture. Cette prédominance ne se manifeste jamais au niveau des fibres de la zone de croissance. Cette remarque s'applique aussi bien aux cultures jeunes qu'aux cultures âgées d'un ou même de deux mois. L'addition, au milieu de culture, d'une solution de chlorure de calcium ne modifie pas ces données. Avec l'adrénaline et l'ergosterol irradié, le calcium n'a pas été spécifiquement fixé au niveau des faisceaux fibrillaires.

Nous avons alors pratiqué des « cultures affrontées » d'un fragment d'aorte et d'un fragment de tissu osseux. Si, avec les fragments d'os mort, les résultats ont été sensiblement de même nature, il en a été tout autrement avec les fragments de tissu osseux vivant. D'ailleurs, une telle culture faite sur un milieu normal ou additionné d'une solution de chlorure de calcium ou d'adrénaline, rentre dans les cas précédents. Mais l'addition même en trace d'ergosterol irradié entraîne une fixation très active sur les fibres élastiques de nouvelle formation.

Quand a lieu cette fixation ? Il serait vain de chercher une fixation du calcium sur des cultures qui n'auraient pas au moins vingt jours de vie. Après un mois, elle devient importante. La fixation du calcium est donc fonction du temps de culture.

Quel est le mécanisme de la fixation du calcium ? Après deux ou trois jours d'étuve, les deux zones de croissance de notre « culture affrontée » entrent en contact. A partir de ce moment, la croissance se ralentit. Les fibrilles, par contre, se développent. Si, à ce stade, on fait la micro-incubation de la culture, nous trouvons d'abondants dépôts de calcium. Avec un éclairage tangentiel et à faible grossissement, le fragment apparaît d'un blanc pur entouré d'une aréole grisâtre. A un plus fort grossissement, cette aréole se montre constituée par de nombreux petits amas de calcium, électivement situés au niveau de la zone où se trouvent les fibrilles. C'est autour de

l'explant aortique, c'est-à-dire là où nous sommes habitués à voir le réseau fibrillaire, que nous rencontrons la plus grande quantité de dépôts calcaires. Les fibres, elles-mêmes, sont d'ailleurs parfaitement visibles, indiquant la part active qu'elles ont prise au processus de la fixation du calcium.

Pour nous résumer, nous rappelons que la fixation du calcium se fait, dans les cultures « in vitro » de tissu élastique, seulement lorsque le fragment est cultivé en présence d'un fragment de tissu osseux vivant et sur un milieu contenant des traces d'ergosterol irradié.

Les fibres néo-formées collaborent activement à la fixation du calcium.

DEUXIEME PARTIE

Dégénérescence des Fibres Élastiques

Au cours des pages précédentes, nous avons dû, à maintes reprises, signaler, en quelques mots, certains facteurs qui déterminaient la dégénérescence des éléments élastiques.

Examinons, maintenant, en quoi consiste cette dégénérescence et les conditions qui la font apparaître.

Remarquons d'abord, que nous n'avons pas trouvé de substance ou de propriété produisant la destruction spécifique des fibres élastiques. En effet, l'apparition des signes de dégénérescence élastique, a toujours coïncidé avec l'apparition des signes de dégénérescence cellulaire. Elle survient plus ou moins rapidement, selon la composition du milieu et le mode de culture. En goutte pendante et pour les cultures faites selon le procédé dit « de vie au ralenti », la dégénérescence se manifeste après trente ou quarante jours d'étuve. Ce laps de temps est considérablement réduit si le milieu de culture est riche en jus embryonnaire, et, par suite, si la croissance est rapide et abondante. En contre-partie, la vitalité d'une culture très pauvre en jus d'embryons peut se prolonger plus longtemps. D'ailleurs, la vitalité des cultures se maintient, si on procède à de fréquents lavages avec un liquide isotonique tel que le Ringer ou le Tyrode. Cette expérience démontre que la dégénérescence fibrillaire n'est pas due à l'appauvrissement du milieu en « tréphones », mais à l'accumulation, dans le milieu de culture, des substances de déchet. S'il nous fallait

fournir d'autres preuves, nous ferions observer que la dégénérescence ne se manifeste pas plus tardivement dans les cultures en boîtes de CARREL. Par contre, des lavages au Tyrode, répétés toutes les 48 heures, sont susceptibles de retarder de soixante à quatre-vingts jours le moment de la dégénérescence fibrillaire.

Par quoi se caractérise la dégénérescence des fibres élastiques ? Il existe, nous l'avons déjà dit, une segmentation, une fragmentation des fibres. Le phénomène commence, bien entendu, par les fibres les plus anciennes, c'est-à-dire par celles qui se trouvent près de l'explant, pour atteindre finalement les fibres les plus excentriques.

La fragmentation des fibres a comme résultat une dislocation complète du réseau. Les fibres n'ont plus de lien, de relation entre elles.

Le processus de segmentation se poursuivant, de nombreux grains d'élastine apparaissent dans les cultures. Ces grains sont donc dus à la rétraction des fibres. On ne peut les considérer comme un premier stade de la genèse élastique, puisqu'ils sont, au contraire, une des phases ultimes de l'évolution des fibres.

De nombreux auteurs ont abouti à cette conclusion par leurs observations « *in vivo* ». Maximow, en particulier, a signalé la présentation, sous cette forme, de l'élastine sous l'influence de causes pathologiques ou à l'état normal dans l'épiglotte du bœuf.

Le cliché (pl. VIII, fig. 16) illustre les caractères de la dégénérescence élastique et montre, d'une part, la fragmentation des fibres, et, d'autre part, leur rétraction en grains d'élastine.

Conclusions

CONCLUSIONS

Les opinions les plus diverses ont été émises sur l'histogénèse des fibrilles élastiques. Il n'est pas possible d'en déduire des conclusions positives. Estimant que cette question n'était pas encore résolue, nous avons pensé que *la méthode de cultures de tissus « in vitro »* était susceptible d'apporter quelques clartés dans le problème, car, seule, elle permet d'isoler et d'étudier séparément les divers facteurs de l'histogénèse fibrillaire, facteurs dont la multiplicité a empêché les méthodes histologiques normales d'aboutir.

Nous rapportons, dans ce travail, les observations que nous avons faites pendant deux ans et qui ont porté sur plus de mille cultures :

I. — On peut mettre en évidence, par une coloration spécifique (Weigert-Orcéine), la présence de fibrilles élastiques néo-formées, dans les cultures « in vitro » de tous tissus embryonnaires ou adultes, présentant eux-mêmes la substance élastique. Pour obtenir ce résultat, il importe de ralentir la croissance générale du tissu et l'activité caryo-cinétique des cellules, en utilisant la technique décrite par FISCHER sous le nom de cultures dites « de vie au ralenti ».

II. — Les cultures sur plasma ne nous ayant pas paru à l'abri de toute critique, en raison de la présence du réseau de fibrine, nous avons fait, parallèlement, des cultures sur sérum pur.

III. — Les premières ébauches fibrillaires apparaissent très tôt, entre la douzième et la vingt-quatrième heure, sous forme

de *condensation intra-cellulaire*. Les premières fibrilles sont dans l'ectoplasme cellulaire et elles sont épi-cellulaires. Leur apparition est soudaine et simultanée dans un grand nombre d'élastoblastes. Le chondriome et le noyau n'ont pas d'action directe sur la genèse de ces éléments fibrillaires.

IV. — La nature élastique des fibrilles est signée par leur affinité aux colorants spécifiques de l'élastine et par leur absence de coloration par les colorants du collagène (MALLORY-VAN GIESON), à l'inverse des fibres collagènes, qui, elles, se colorent très vivement.

V. — Les fibrilles néo-formées se prolongent dans les pseudopodes fibroblastiques. Elles se réunissent aux fibrilles des cellules voisines, traversent les membranes cellulaires et constituent un réseau extra-cellulaire.

VI. — Les fibres, proprement dites, résultent de l'anastomose de plusieurs fibrilles.

L'anastomose commence alors que les fibrilles sont encore intra-cellulaires, mais elle s'effectue, surtout, lorsque les fibrilles sont devenues extra-cellulaires. Ceci explique l'aspect pénicillé des fibres, si souvent remarqué dans les cultures.

VII. — Les fibres élastiques de nouvelle formation sont longues, rectilignes, très positives au Weigert. Elles s'anastomosent ou se divisent fréquemment.

VIII. — Les caractères du réseau élastique varient selon le milieu sur lequel est faite la culture. Sur sérum, les fibres sont accolées les unes aux autres. Entre elles, il n'existe pas de larges mailles. Elles forment, par leur juxtaposition, des lames élastiques. Sur plasma, il s'agit d'un reticulum élastique superposé au reticulum fibrineux.

IX. — Le diagnostic positif de la nature élastique du réseau est facile. Il est fait, outre la coloration, sur les caractères morphologiques et physiques des fibres (élasticité et birefringence des fibres à l'état de tension).

X. — Les variations chimiques du milieu de culture influencent profondément la genèse élastique. Certains acides aminés (glycocolle, tryptophane, etc...) favorisent la croissance; d'autres l'inhibent (cystine, lysine, histidine, etc...); d'autres, enfin, sont sans action (arginine, glutathion, leucine, etc...).

XI. — Une modification des facteurs physiques ou mécaniques du milieu retentit sur la croissance élastique.

Les battements cardiaques ont une action très favorable, sans que ce soit une condition nécessaire. La force contractile entraîne toujours une disposition particulière des fibrilles élastiques néo-formées.

Les chocs ont une action analogue, mais plus accentuée, lorsque leur intensité est faible et lorsque leur fréquence est modérée. Ils donnent lieu, dans ce cas, à une véritable hypergenèse élastique. A intensité plus grande et à fréquence plus rapide, les chocs disloquent le réseau élastique et déterminent la dégénérescence rapide des fibrilles.

XII. — Dans les « cultures affrontées », le second explant est sans influence sur la production élastique. Il entraîne une disposition spéciale des fibrilles qui s'étendent d'un fragment à l'autre. Le tissu cancéreux a une action inhibitrice très nette. Les fibrilles, situées devant le fragment néoplasique, dégèrent rapidement, d'où orientation des fibrilles dans un sens perpendiculaire à la direction des cas précédents.

Les infections microbiennes ont, également, une action inhibitrice, action variable selon leur nature, leur intensité, leur distance plus ou moins grande de l'explant.

XIII. — Les cultures d'aorte, faites en présence d'ergosterol irradié et d'un fragment d'os vivant, sont, après un séjour d'un mois et plus à l'étuve, très riches en sels de calcium, fixés au niveau des fibrilles élastiques.

XIV. — Au bout d'un temps variable avec le mode de culture, les fibres élastiques dégénèrent. Elles se fragmentent et se rétractent en grains. Les grains doivent être considérés, non pas comme une forme intermédiaire, rencontrée aux premiers stades de la genèse fibrillaire, mais bien comme une forme de dégénérescence des éléments élastiques.

Vu le Doyen :

BALTHAZARD.

Vu le Président :

JEAN VERNE.

*Vu et permis d'imprimer,
le Recteur :*

CHARLETY.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1. ALFEJEW S. — Ueber die embryonale Histogenese der Kollagenen und reticulären Fasern des Bindegewebes bei Säugetieren. *Zeitschr. f. Wiss. Biol. Abt. D.: Zeitschr. f. Zellforsch. u. Mikroskop. Anat. Bd : 3, p. 149. — 1926.*
2. ARGAUD ET DUCOING. — Hypergenèse élastique intra-épithéliomateuse. *Mem. Orig. A. AP. — Tome VI, n° 1, p. 37-42. — Janvier 1929.*
3. ARGAUD L. — *Coloration des fibres élastiques* — *C. R. Soc. Biol. T : 11 — 1923.*
4. BAITSELL G. — The origin and structure of a fibrous tissue which appears in living cultures of adult frog tissues. *Journ. exp. Médec. — Vol. 21, p. 455. — 1925.*
5. BLOOM-WILLIAM. — Studies on fibers in tissue culture — The developpement of élastics fibers in cultures of embryonic heart and aorta. *Archiv. für. exp. Zellforschung. — Bd : IX-Heft 1/2, p. 6. — 1929.*
6. BRAUD-TH. V ET HOLG F. — Calcification locale après injection sous-cutanée d'ergosterol irradié. — *Hoppe Seylers 1931-195, p. 241-247.*
7. BRAUD-TH. V. ET HOLG F. — *Hoppe Seylers 1929, p. 185-217.*
8. BURROWS M. T. AND NEYMANN-C. — Studies on the métabolism of cells in vitro. — *Journ. of exp. med. Vol. 25, p. 93. — 1917.*
9. CERVELLO ET LÉVI G. — L'azione dell'iodo e dell' adrenalina studiata su cellule viventi fuori dell' organ' mo. *Archiv. di. fisiol. L : 15 — 1917.*

10. CHLOPIN N. — Ueber « in vitro » kulturen der embryonalen Gewebe der Säugetiere. — *Archiv. für mikrosk. Anal. Bd : LXVI S. 435* — 1922.
11. D'ANTONA (Serafino). — Ueber die Entstehung der Bindegewebsfibrillen bei den artherosklerotischen Aortaverdickungen — Beitrag zur normalen Entwicklung des Bindegewebes. — *Zeitschrift für wiss. Zoologie. Bd : CIX, S. 485.* — 1914.
12. DOLJANSKI L. — Cultures pures de tissu hépatique. *C. R. Soc. Biol. — T. I, p. 754.* — 1929.
13. DOLJANSKI L. — Sur la morphologie des cultures pures de cellules hépatiques « in vitro ». *C. R. Soc. Biol. — T. II, p. 629.* — 1929.
14. DUBREUIL ET LACOSTE A. — Sur la genèse des fibrilles élastiques. *Extr. des cpt. rend, des séances de la Soc. de Biol. de Bordeaux. — T. IV, p. 928.*
15. EBELING A. H. — Action des acides aminés sur la croissance des fibroblastes. *Cpt. rend. des séances de la Soc. de Biol. — T. 90, p. 31.* — 1924.
16. FRANÇOIS FRANCK, L. GUYON ET NAGEOTTE J. — Sur la structure et la métastructure de la trame collagène chez l'adulte. *Bull. d'Histol. app. — T. IV.* — 1927.
17. FEULGEN R. UND VOIT R. — Ueber einen weitverbreiteten festen aldehyd. *Pflüger's Arch. für Physiol. Bd : 206.* — 1924.
18. FISCHER A. ET PARKER R.C. — A new technique for the study of tissues in a state of latent life in vitro. *Proc. Soc. exp. Biol. and Med. — Tome XXVI, p. 585.* — 1929.
19. FISCHER A. ET PARKER R.C. — Différenciation and proliferation « in vitro ». *Proc. Soc. exp. Biol. a. Méd. — T. XXVI, p. 583.* — 1929.
20. FUSS H. — Die bildung der elastischen Fasern. *Virchows arch. 185, p. 29.* — 1906.

21. GARDNER M. — Zur Frage über die Histogenèse des élastischen Gewebes.
Biol. Zentralbl — Bd 17, S 394. — 1897.
22. GOLOWINSKI J. — Zur Kenntniss der Histogenese der Bindege-
websfibrillen.
Anatomische Hefte Bd: XXXIII — Hft : 2 — S : III — 1924
23. HANSEN F. — Ueber die Genese einiger Bindegewebsgrunds-
tanzen.
Anat. Anz. — Bd. 16 — S. 417 — 1899.
24. HUECK W. — Ueber das Mesenchym.
Zieglers Beitr. z. pathol anat. u. z. a'lg. Pathol. Bd. 66 —
C. 330 — 1920.
25. HUZELA T. — Der Entstehungsmechanismus und die organis-
matorische Bedeutung des Gitterfasersystems.
Arch. f. Entwick lungsmech T. C. — S. 430 — 477 —
1929.
26. KERVILY M. DE. — Les fibrilles élastiques dans les lames colla-
gènes (particulièrement dans les capsules de certaines cel-
lules cartilagineuses et dans la membrane basale des tubes
du testicule).
Cpt. rendu. des séances de la Soc. de Biol. L. 90, — p. 851.
— 1924.
27. KERVILY M. DE. — Les granulations des élastoblastes et les pre-
miers stades de développement des fibres élastiques révélés
par l'imprégnation à l'argent.
Cpt. rend. des séances de la Soc. de Biol. L. 90, p. 1022.
— 1924.
28. KERVILY M. DE. — Surcharge et dégénérescence élastique des
cellules cartilagineuses de la trachée.
C. R. Soc. Biol. p. 1151 — 1923.
29. KÖLLIKER A. — *Handbuch der Gewebelehre des Menschen* Bd.
I — Leipzig Engelmann 1889.
30. KROMPECHER ST. — Die Entwicklung der elastischen Elemente
der Arterienwand.
Z. Ges. Anat. I — *Z. Anat.* 85 — *H. 5/6.* S. 704-723 — 1928.

31. — LANES H. — Genèse des fibrilles élastiques dans les cellules cartilagineuses.
C. R. Soc. Biol. p. 48 — T. 2 — 1925.
32. LAGUESSE M.-E. — Les rapports génétiques du chondriome avec les fibrilles précollagènes dans le tissu conjonctif lache.
C. R. Soc. Biol. — T. XC, p. 687. — 1924.
33. LAGUESSE M.E. — Sur l'apparition de la substance amorphe et des premières fibrilles dans les tendons.
C. R. Association des Anatomistes — Rennes 1912 — P. 110
34. LAGUESSE M.E. — La structure lamelleuse et le développement du tissu conjonctif, lache chez les mammifères en général et chez l'homme en particulier.
Archives de Biologie. T. XXXI, p. 173. — 1921.
35. LAGUESSE M.E. — La première ébauche des fibrilles conjonctives provient-elle du chondriome ?
Archives d'ana. microsc. T. XXII, F. I., p. 129. — 1926.
36. LÉVI G. — La substance élastique.
Trattato di istologia — 1927.
37. LÉVI G. — Nuovi studii su cellule coltivate in vitro.
Archivio ital. di Anat. e di Embr. Vol. XVI, p. 422. — 1919.
38. LÉVI G. — Della colorazione elettiva del connettivo colmethodo Bielchowsky. — *Monit. Zool. Anat. Ital. an 18 — N° 12. — Firenze 1907.*
39. LEWIS (Margaret Reed). — Développement of connective tissue fibers in tissue culture of chick embryos.
Contrib. to Embryol. Vol. VI, n° 17, p. 47. — 1917.
40. LIVINI F. — Genesi delle fibre collagène ed élastische.
Arch. di anat. e. di Embriol. Vol. VIII F. 3 — 1909.
41. LOISEL A. — Formation et évolution des éléments du tissu élastique.
Journ. de l'anat. et Physiol. T. 33. N° 2 — 1897.
42. MAC KINNEY R. L. — Studies on Fibers in tissue culture.
Arch. F. exper. Bellfors IX — 14-35 — 1930.

43. MALL F. — Reticulated tissue and its relation from the connective tissue fibrils.
Reports of Johns Hopkins Hosp. Bd. 1, p. 171. — 1896.
44. MALL F. — On the development of the connective tissue from the connective tissue syncytium.
Americ. Journal of Anat. Bd. I, p. 329. — 1902.
45. MALL F. — Das reticulirte Gewebe und seine Pezichungen zu den Bindegewebsfibrillen.
Abh. d. math. — phys. cl. d. Königl. Sächs. Gesellsch. d. Wiss. S. 299-338 — 1891.
46. MAXIMOW A. — Über die Entwicklung argyrophiler und kollagener Fasern in Kulturen von erwachsenen Säugetiergewebe.
Zeitsch. f. mikrosk. Anat. Forsch. Bd 17 — S. 625 — 1929.
47. MAXIMOW A. — Tissue cultures of young Mammalian embryos.
Contr. to Embryol N° 80, p. 49. — Public. 361 of the Carnegie Institution of Washington 1925.
48. MAXIMOW A. — Die zytologischen Eigenschaften der Fibroblasten, Retikulumzellen und Lymphocyten des Lymphoiden Gewebes ausserhalb des Organismus.
Archiv. für mik. Anat. Bd XCVII. S. 283 — 1923.
49. MERKEL F. — Betrachtungen ueber die Entwicklung des Bindegewebes.
Anat. Hefte Bd : 38 — S. 321 — 1909.
50. MEVES F. — Die Chondriokonten in ihrem Ferhältnis zur Füllmasse Flemmings.
Anat. Anzeig. — Bd. 31, p. 561 — 1907.
51. MEVES F. — Über Mitochondrien bzw chondriokonten in den Zellen junger Embryonen.
Anatomischer anzeiger Bd. 31 — S. 399 — 1907.
52. MÖLLENDORF W. — Handbuch der Mikroskopischen Anatomie des Menschen.
II Berlin Verl. J. Springer — 1927.
53. MOMIGLIANO, ET LÉVY G. — Caratteri dei tenoblastiecomportamento delle fibre collagene nelle colture di tendine di embrione de pollo.
Boll. Soc. It. Biol. Sper V — 321-324 — 1930.

54. NAGEOTTE J. — La boule d'œdème de Ranvier et la disposition de la trame dans le tissu conjonctif sous-cutané.
Cpt. Rend. de la Soc. de Biol. — P. 157. — 1919.
55. NAGEOTTE J. ET GUYON L. — Sur la trame réticulée du tissu adipeux et sur les fibres grilagées en général.
Cpt. Rend. des séances de la Soc. de Biol. — P. 1288 — 1923.
56. NOEL (R) ET MORIN (G). — Contribution à l'étude du faisceau de His et du nœud de Tawara.
Bull. Hist. appl. T. VI — 1929.
57. ODIETTE (D). — Quelques remarques sur la genèse des fibrilles élastiques dans les cultures « in vitro ».
Cpt. rend. Assoc. Anat. Nancy — 27° R. — 1932.
58. ODIETTE D. — Influence de quelques acides aminés sur la genèse des éléments élastiques dans les cultures de tissus « in vitro ».
Cpt. rendu des séances de la Soc. de Biol — Juin 1932.
59. OLIVO O.M. — Differenziazione in vitro di fibre collagene.
Boll. Soc. Ital. Biol. Sper V — 109-111 — 1930.
60. PETERSEN H. — Einiges über die Formänderungen gebogener Stäbe aus verschiedenem Material und Anwendung auf die Elastische und Kollagene Faser des Tierischen Körpers.
Die Naturwissenschaften Bd. 14 — S. 605 — 1926.
61. POLICARD A. — La microincinération et son intérêt dans les recherches histo-chimiques.
Bull. d'Hist. appl. n° 1 — 1924.
62. POLICARD A. — Recherches histo-chimiques sur la teneur en cendres des diverses parties de la cellule. Teneur du noyau en calcium.
Bull. d'Hist. appl. — V — 260-265 — 1928.
63. POLICARD A. ET P. RAVAUULT. — Procédé permettant la micro-incinération sans rétraction d'organes riches en tissu fibreux.
Bull. d'Hist. appl. IV — 170 — 1927 et *journal de Méd. de Lyon* — 5 novembre 1927.

64. POLICARD A. ET PILLET. — Recherches sur le cartilage d'accroissement des os longs.
Bull. d'Hist. appl. III — 307, 315 — 1926.
65. PORTA P. — Différenciation des fibres élastiques dans les cultures « in vitro ».
Bull. Soc. Ital. Biol. Sper V — 327-329 — 1930.
66. RANKE O. — Zur Frage der elastischen Systeme, besonders der Aortenwand.
Ziegler's Beitr. z. Pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. — Bd. 73 — S. 638 — 1925.
67. RANVIER L. — *Traité technique d'histologie* — II ed. Paris E. Savy — 1889.
68. RAVAUULT P. — Recherches histo-chimiques sur l'imprégnation calcaire de la paroi aortique.
Bull. Histol. appl. V — 40-48 — 1928.
69. REDENZ E. — Untersuchungen über die elastische Faser.
I. Untersuchung der isolierten elastischen Faser des Nackenbandes mit dem Mikromanipulator.
Ziegler's Beitr. z. pathol. Anat. u. z. allg. Pathol. — Bd: 76, S: 226. 1926.
70. RENAULT J. — Sur la tramule du tissu conjonctif.
Arch. Anat. Microsc. — Bd : 6, P. 1. 1903.
71. RENAULT J. — La substance fondamentale continue du tissu conjonctif lâche.
Cpt. Rend. des séances de la Soc. de Biol. — Bd : 60. S : 34. 1906.
72. RIEDEL G. — Die Entwicklung und Entartung des elastischen Gewebes in der senilen Mamma.
Virchows. Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. — Bd : 256. S : 243. 1925.
73. RÖTHIG P. — Entwicklung der elastischen Fasern.
Zeitsch. f. d. Ges. Anat. Abtd : 3 ; *Ergebn. d. Anat. u. Entwicklungsgesch* Bd : 17. S : 300. 1909.
74. SCHAFER J. — Lehrbuch der Histologie und Histogenese.
2 aufl. Leipzig. — Engelmann 1922.

75. SCHMIDT W.-J. — Über die Bedeutung polarisationsmikroskopischer Forschungen in der Zoologie.
Zeitschrift für wiss. Mikroskopie Bd : XL. Ft : 2 P. 97.
1924.
76. SPALTEHOLZ W. — Das Bindegewebsgerüst der Dünndam-scheidhaut des Hundes.
Arch. f. Anat. u. Physiol. Anat. Abt. suppl. Bd : 5 S : 373.
1857.
77. STERNBERG C. — Über die elastischen Fasern.
Virchows Arch. f. Pathol. Anat. u. Physiol. Bd : 254.
S : 656. 1925.
78. STRAUSS E. u. COLLIER. — W. Spezielle Chemie der Proteine.
Handb. d. Biochemieherausg. von C. Oppenheimer.
Bd : 1. S : 625. 1923.
79. TANNENBERG J. — Das Verhalten von Fibroblastenreinkultu-ren bei bakterieller Infektion.
Arch. f. exp. Zellforsch. ch. IX. S : 258-268. 1930.
80. UNNA P. — Elastin und Elacin.
Monatsh. f. prakt Dermatol. Bd : 19. S : 397. 1894.
81. VERNE J. — Recherches sur la réaction de Schiff en histo-chimie.
C. R. Assoc. Anat. Prague 1928.
82. VERNE J. — Démonstration histochemique de la formation de corps à fonctions aldéhydiques aux dépens des enclaves graisseuses et lipidiques.
C. R. Soc. Biol. Tome xcix, p. 266. 1928.
83. VERNE J. — Etude histochemique des substances aldéhydiques formées au cours du métabolisme des corps gras.
Annales Physiol. Tome v n° 2, p. 245-267. 1929.
84. WASSERMANN F. — Die Fettorgane des Menschen. Entwicklung, Bau und systematische Stellung des sog. Fettgewebes.
Zeit. f. Zellforsch. H. 2, s. 325-328. — 1926.
85. WEISS P. — Erwingung elementarer Strukturverschiedenhei-tem am in vitro wachsenden Gewebe.
Arch. f. Entwicklungsmech. C xvi. 438-554. 1929.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	1
HISTORIQUE	7
GÉNÉRALITÉS SUR LA SUBSTANCE ÉLASTIQUE	15
MATÉRIEL ET TECHNIQUE	21
EVOLUTION D'UNE CULTURE DE TISSU ÉLASTIQUE	25
DOCUMENTS PHOTOGRAPHIQUES	41
INFLUENCE DE CORPS CHIMIQUES	61
INFLUENCE DE CAUSES PHYSIQUES OU MÉCANIQUES	65
INFLUENCE DE CAUSES BIOLOGIQUES	71
FIXATION DU CALCIUM	79
DÉGÉNÉRESCENCE DES FIBRES ÉLASTIQUES	83
CONCLUSIONS	85
BIBLIOGRAPHIE	91
